

184

THÈSES

présentées

A la Faculté des Sciences de l'Université de Montpellier
pour obtenir le grade de " DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES "

par

Louis KHAU VAN KIEN

1^{re} Thèse

Contribution Histochimique à l'Etude de la Physiologie
de la Rétine, en particulier de la sensibilité de l'œil
et de la Vision des Couleurs

2^{me} Thèse - Propositions soumises par la Faculté
Les Saprolégniacées

Soutenues le

1959, devant la Commission d'Examen

JURY

{	MM. MATHIAS,	Doyen,	<i>Président</i>	}
	L. EMBERGER,	Professeur	<i>Assesseurs</i>	
	J. TURCHINI,	Professeur à la Faculté de Médecine		

" Ets VALETTE "

21, Rue Foch, 21

MONTPELLIER

1959

THÈSES

présentées

A la Faculté des Sciences de l'Université de Montpellier
pour obtenir le grade de "DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES"

par

Louis KHAU VAN KIEN

1^{re} Thèse

Contribution Histochimique à l'Etude de la Physiologie de la Rétine, en particulier de la sensibilité de l'œil et de la Vision des Couleurs

2^{me} Thèse - Propositions soumises par la Faculté Les Saprologniacées

Soutenues le

1959, devant la Commission d'Examen

JURY

MM. MATHIAS, Doyen,

Président

L. EMBERGER, Professeur

J. TURCHINI, Professeur à la Faculté de Médecine

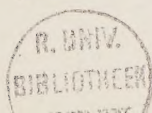
} *Assesseurs*

" Ets VALETTE "

21, Rue Foch, 21

MONTPELLIER

1959



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTES DES SCIENCES
DE MONTPELLIER

Professeurs Honoraires :

J. PAVILLARD R. JACQUES J. CABANNES M. CASTERAS
E. CARRIERE E. TURRIERE J. SOULA

Doyen : P. MATHIAS, Professeur de Zoologie et Biologie Générale

Professeurs Titulaires : M. MOUSSERON, Chimie Organique
L. EMBERGER, Botanique
C. BOUHET, Physique
G. DENIZOT, Géologie
P. CHATELAIN, Minéralogie et Cristallographie
Mle O. TUZET, Zoologie et Biologie animale
Mle G. CAUQUIL, Chimie Organique
J. GRANIER, Physique
J.L. TROCHAIN, Botanique Coloniale
G. COUCHET, Mécanique Rationnelle
J. SALVINIEN, Chimie Physique
J.P. KAHANE, Mathématiques Pures
Mle A.M. VERGNOUX, Physique

Professeurs sans chaire O. DIVE, Mathématiques
P. VIELES, Chimie
J. MOTTE, Botanique
J. RABINOVITCH, Physique
J. MOREAU, Mathématiques
J. AVIAS, Géologie
P. SILBER, Chimie Minérale

Maîtres de Conférences E. KAHANE, Chimie Biologique
R. JACQUIER, Chimie
R. JOUTY, Physique
B. CHARLES, Mathématiques
R. NOZERAN, Botanique
C. CHALIN, Physique
J. JULLIEN, Chimie
A. CASADEVALL, Chimie
M. LEFRANC, Mathématiques
BLANCHARD, Mathématiques
R. LAFONT, Physique
Y. ASSENMACHER, Physiologie

Secrétaire honoraire : DUBOIS

Secrétaire : R. ROUQUAIROL

Nous prions Monsieur le Doyen MATHIAS qui a été un de nos premiers Maîtres de la Faculté des Sciences, qui a bien voulu nous faire l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse et qui nous a personnellement aidé de son enseignement, de son expérience et de ses conseils tout le long de notre vie universitaire et dans les difficultés du fait de la guerre, de trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur Emberger qui nous a toujours témoigné la plus grande bienveillance, qui nous a toujours aidé de son expérience et de ses conseils tout au long de notre vie de chercheur et qui a bien voulu accepter de siéger dans notre jury de thèse, nous voulons exprimer notre respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Turchini, notre Maître qui nous a toujours soutenu, aidé et conseillé aussi bien dans l'accomplissement de ce travail que tout le long de notre carrière scientifique qu'il nous fit connaître et aimer. Nous sommes heureux d'apporter aujourd'hui le témoignage de notre profonde, respectueuse et affectueuse reconnaissance. Grâce à lui, nous avons pu avoir le soutien moral, les directives de travail et les moyens matériels pour réaliser des travaux de recherches et mener à bien ce travail.

A Monsieur le Professeur Granel, qui nous a accueilli avec bienveillance au Laboratoire et nous a fait participer à ses recherches, nous adressons nos sincères remerciements pour ses précieux conseils et sa grande bonté.

A Monsieur le Professeur Castel, qui nous a orienté vers les recherches histochimiques, nous exprimons notre respectueux attachement.

*Il nous est agréable de remercier nos
camarades du Laboratoire d'Histologie avec lesquels
nous avons collaboré au cours de nos travaux.*

*Enfin, nous remercions tous nos amis et
tous les collaborateurs techniques qui nous ont aidé
pour l'impression de cette thèse.*

CONTRIBUTION HISTOCHIMIQUE A L'ETUDE DE LA PHYSIOLOGIE
DE LA RETINE, EN PARTICULIER DE LA SENSIBILITE DE L'OEIL
ET DE LA VISION DES COULEURS

INTRODUCTION

Parmi les problèmes étudiés en physiologie de la vision et des sensations, l'un des plus délicats et des plus vastes est sans doute celui qui concerne la sensibilité de l'oeil et la vision des couleurs.

De nombreux savants, physiciens, chimistes, biologistes se sont attachés à cette recherche en apportant de multiples documents.

Dans l'état actuel de la connaissance, une revue générale de ce qui est raisonnable et bien établi sur l'étude de la vision, est tout aussi souhaitable pour la compréhension des mécanismes de la vision, que l'apport de techniques, de théories ou de faits nouveaux.

Des essais de mise au point ont été faits, mais la littérature du domaine de la physiologie de la vision étant très vaste et non organisée, il est difficile dans ces conditions de rassembler et de relever toutes les données scientifiques sans omettre des travaux et des détails parfois importants.

D'après H. Piéron (1943) une théorie de la vision des couleurs doit commencer par l'étude de l'absorption des rayons lumineux par les différents récepteurs, c'est-à-dire par l'identification de leurs pigments photo sensibles ; ensuite elle doit assigner sa place à chacun des éléments constitutifs de la rétine, suivre les influx nerveux dans leur parcours vers les centres supérieurs et définir enfin le mécanisme de la vision des multiples couleurs analysées, au niveau de quelques éléments visuels et reconstituée ou restituée dans leur ensemble au niveau de l'écorce cérébrale.

Une telle théorie de la vision, à l'heure actuelle, serait encore prématurée en dépit des grands progrès d'instrumentation et des moyens d'investigations de ces dernières années et les théories présentes de la vision des couleurs ne reflètent que partiellement des fragments de cette chaîne du processus.

Dans l'impossibilité de dresser une vue générale sur les questions de la vision des couleurs, nous avons essayé d'apporter une contribution limitée à l'étude histochimique des substances photosensibles des récepteurs supposés répondre à l'excitation de la lumière et des couleurs, et à l'étude histophysiologique des cellules sensorielles vis-à-vis des lumières monochromatiques.

Nous avons essayé, encouragé par notre maître, le professeur Turchini, de les déterminer et d'obtenir des renseignements nouveaux intéressant le mécanisme de la vision des couleurs ; car nous nous sommes aperçu qu'avec les réactions des fluorones nous pouvions obtenir des réactions colorées au niveau des cellules visuelles et qu'on observait des variations avec la lumière.

I - HISTORIQUE DES METHODES ET TECHNIQUES HISTOCHIMIQUES

DES FLUORONES QUI NOUS ONT AMENE A L'ETUDE DE LA RETINE.

Du fait de notre formation de biochimiste, c'est évidemment le côté chimique avant le côté morphologique qui devait retenir notre attention.

Nous avons travaillé au laboratoire de pharmacie chimique du professeur Castel à la Faculté de pharmacie de Montpellier, puis pendant 14 ans au laboratoire d'histologie du professeur Turchini à la Faculté de Médecine.

Notre thèse d'Etat de pharmacie visait à "La détection et la localisation de l'antimoine utilisé comme médicament antiparasitaire et introduit dans l'organisme par les différentes voies".

Pour ce faire, nous avons utilisé, sur les indications du professeur Castel, les fluorones dont l'une, la 9 méthyl, 2, 3, 7, trihydroxy, 6 fluorone avait déjà été signalé par R. Duckert comme réactif de l'antimoine.

Ce dernier, étudiant les dérivés de l'hydroxyhydroquinone, avait découvert par hasard une impureté rouge qui donnait avec l'antimoine une réaction colorée rouge vif en milieu acide, très sélective à pH 4.

A la suite des travaux du professeur P. Wenger et R. Duckert (1935) qui ont déterminé cette impureté comme étant la 9 méthyl, 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone et en ont donné une méthode de préparation Mademoiselle M. Lievin (1940), élève du professeur R. Delaby (1940) a utilisé cette fluorone pour la caractérisation de l'antimoine par les techniques des stilliréactions avec de bons résultats.

Le professeur Wenger malgré les événements de 1941 a eu l'amabilité de nous en procurer un petit échantillon.

Nous l'avons essayé "in vitro", en stilliréaction et sur coupe histologique, ce qui nous a permis de reconnaître sa valeur comme réactif histochimique spécifique de l'antimoine. Nous avons essayé, au laboratoire de Pharmacie chimique, de faire la synthèse de cette fluorone, car, à cette époque, il était impossible de s'en procurer.

Nous avons du reprendre les travaux originaux de chimie organique de Liebermann et Lindenbaum (1904), et nous avons établi une méthode de préparation, non seulement de la 9 méthyl, 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone, mais de toute la série des fluorones, 9 phényl 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone, 9 phényl tétrahydroxy, 6 fluorone, 9 phényl pentahydroxy, 6 fluorone en nous inspirant de la méthode de ces auteurs et en apportant les modifications de R. Duckert. Comme au cours de la condensation de ces fluorones en milieu sulfurique, des dérivés secondaires prennent naissance, nous avons recherché la nature de ces produits et nous avons retrouvé surtout le 2, 3 dioxyxanthène déjà entrevu par Liebermann et Lindenbaum et qu'ils avaient caractérisé par ses dérivés acétylés.

Nous avons pu l'isoler et le séparer des fluorones par sa solubilité dans l'eau bouillante, et obtenir des fluorones pures. Nous avons fait ensuite des sels, sulfates et chlorures, conduisant aux fluorones très pures pour la localisation histochimiques de l'antimoine. Nous avons utilisé principalement une nouvelle fluorone la 9 phényl, 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone qui s'est révélée plus intéressante et plus spécifique à pH = 3, 5.

C'est au cours des recherches de localisation de l'antimoine dans les tissus que les professeurs Turchini, Castel et nous-même (1945), avons reconnu les propriétés particulières des fluorones vis-à-vis des acides nucléiques cellulaires du noyau et du cytoplasme.

Le réactif alcoolique à base de la 9 méthyl, 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone à pH = 4 et de la 9 phényl, 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone à pH = 3,5 utilisé pour la détection de l'antimoine, et ne colorant pas normalement les noyaux cellulaires, ni les tissus des coupes, pouvait à la longue donner des colorations avec les noyaux cellulaires. Nous avons alors mesuré le pH des solutions vieillies pour les stabiliser à pH = 4 ou 3, 5. Au bout d'une vingtaine de jours le pH avait varié et sa valeur atteignait 1. C'est au voisinage de cette acidité que les coupes diversement fixées, coupées à la congélation, ou après inclusion à la paraffine donnaient une coloration nucléaire de grande finesse après 15 à 20 minutes de contact avec le réactif. La coloration des noyaux devenait plus belle et plus nette après lavage à l'eau de source, ou mieux à l'eau alcalinisée par le carbonate de lithine ou de soude à 1 % ou encore par de l'ammoniaque, tout comme pour une coloration à l'hématéine. Les noyaux sont bleu violacé, le cytoplasme jaune orangé à rose.

Pour accélérer et améliorer la coloration nucléaire nous avons alors hydrolysé préalablement les coupes par de l'acide chlorhydrique normal et supprimé les substances tampons. Cette modification a donné des résultats plus nets et plus réguliers. La coloration nucléaire et cytoplasmique, de cette façon était analogue à la réaction nucléaire de Feulgen, mais présentait l'avantage de donner à la fois une réaction colorée des acides nucléiques des noyaux et du cytoplasme après hydrolyse. De meilleurs résultats ont été obtenus avec la 9 phényl 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone.

Comme dans la réaction de Feulgen c'est le sucre de l'acide A. D. N. qui donne la réaction aldéhydrique, nous avons recherché "in vitro" les réactions colorées des fluorones avec les divers sucres (monosaccharides, disaccharides, polysaccharides etc). Dans chacun de ces groupes les pentoses, hexoses, aldoses, cétooses ont été essayés, puis les sucres suivants : ribose, ribodésose, arabinose, xylose, glucose, mannose, galactose, fructose, maltose, saccharose : qui nous ont tous donné, dans les mêmes conditions, des réactions colorées.

Les bases puriques, les phosphates et composés phosphorés non glucidiques ne donnent pas de coloration et on retrouve in vitro le renforcement des couleurs observé sur les coupes après passage en milieu alcalin, les résultats des réactions des sucres sont retrouvés avec les produits biologiques : acide thymonucléique du thymus de Veau, acide ribonucléique de Levure de bière, acide tuberculinique, etc. Après hydrolyse les sucres libérés, ribodésose et ribose, donnent respectivement la coloration bleu violacé et rouge orangé des préparations histologiques de Levure et de tissu. La base chimique de la réaction a été définie et rapportée aux fonctions phénols par des études qualitatives et quantitative avec des sucres purs. Une étude comparative avec divers polyphénols (oxyhydroquinone, phloroglucine, pyrogallol, pyrocatéchol etc.) a montré des réactions colorées dans le même sens. Il en est de même des mono, di, tri, et poly phénols. Dans les réactions du type Molisch, Séliwanoff, (1936) par exemple on a surtout des réactions des groupes : aldose, cétoose, pentose, hexose etc, tandis qu'avec les fluorones, les sucres donnent chacun une coloration différente. L'intérêt des fluorones réside dans la coloration contrastée bleu violet et rouge orangé des acides A. D. N. et A. R. N. différente de celle des autres sucres cellulaires.

D'après ces recherches biochimiques, dès 1945 nous avons mis au point avec les fluorones de véritables réactions nucléales nouvelles. Par leur finesse et par le jeu des diverses fluorones (9 méthyl, 9 phényl trihydroxy ou tétra ou penta hydroxy 6 fluorone) elles peuvent donner un éventail de renseignements utiles pour l'étude qualitative des acides nucléiques et éventuellement leur estimation quantitative.

Par la suite, nous avons apporté des précisions de techniques pour assurer à la réaction des fluorones des résultats constants : choix des fixateurs, étude de la modalité de l'hydrolyse alcoolique sur différents tissus de l'échelle des êtres vivants, (végétaux, animaux).

Dès 1947, après l'établissement des bases chimiques des réactions, et des techniques de détection avec les fluorones, nous avons pu les appliquer à l'étude des acides nucléiques cellulaires en les employant dans une méthode de recherche convergente avec les autres réactions classiques, (Feulgen - Brachet) et en employant la désoxyribo et la ribonucléase.

C'est en utilisant la ribonucléase, qui clive et détache les ribonucléotides des acides ribonucléiques en les rendant non colorables par les colorants basiques - bleu de toluidine par exemple - que nous nous sommes aperçu des propriétés intéressantes nouvelles de la ribonucléase utilisée d'une manière différente de la technique de Brachet : les préparations histologiques, après action diastasique, devenues négative au bleu de toluidine et à la pyronine donnaient par contre, avec les fluorones, après légère hydrolyse, une coloration rose orangé au niveau de certains éléments cellulaires, due aux nucléotides et nucléosides à ribose ayant échappé à l'action de la ribonucléase.

Cette constatation amena un grand progrès dans l'étude des composés et des dérivés des acides ribonucléiques cytoplasmiques et permit leur détection et leur localisation grâce aux techniques des fluorones.

Des améliorations de nos techniques, pour assurer une meilleure détection et analyse histochimiques, ont été apportées, 1°) par l'emploi de fixateurs insolubilisants des nucléotides (sels de baryum de plomb, d'urane, de mercure),

2°) par le rejet des fixateurs acides qui dissolvent les substances phosphorées acidodissolubles dont souvent elles font partie,

3°) par l'emploi des sels biliaires étudiés par Henry et Stacey (1945) et Panijel (1948). Ces sels et surtout le déhydrocholate en solution 4 % à chaud (50°), et à des temps variables étaient capables de dissoudre et de détacher dans les coupes histologiques les nucléotides : avant 1 heure, les acides ribonucléiques 1 à 3 heures, les acides désoxyribonucléiques 3 à 12 heures. Les auteurs ont pu par la suite les refixer sur les préparations, après traitement et incubation dans les solutions d'acides ribonucléiques purs, et redonner alors la coloration de Gram primitive. Nous avons utilisé ces sels biliaires avec les fluorones, concurremment à la coloration de Gram, du vert de méthyle pyronine et du bleu de toluidine.

Grâce à ces améliorations de techniques et à l'emploi d'autres agents dissolvants : l'acide trichloracétique, la digitonine, les diastases cellulaires etc, nous avons pu alors aborder l'étude des dérivés nucléiques moins condensés, comme les nucléotides à ribose, à l'aide de nouvelles réactions nucléotidiques et glucidiques.

En résumé, nos techniques histochimiques des fluorones reposent sur les bases suivantes :

Pour la réaction nucléale : fixation cytologique des nucléines leur conservation, leur distinction par les agents dissolvants ou détachants chimiques ou diastasiques, leur hydrolyse acide en milieu aqueux ou alcoolique, l'obtention de la coloration bleu violacé du ribodésosé avec la fluorone, et enfin comparaison avec la réaction de Feulgen.

Pour la réaction cytoplasme : fixation globale des acides A. R. N. et de leurs dérivés à ribose, leur conservation, hydrolyse acide légère, coloration rose à rouge orangé du ribose avec les fluorones, et comparaison avec les colorations des acides A. R. N. des techniques classiques.

Pour la réaction optimale : mêmes précautions de fixation et de conservation, hydrolyse acide moyenne, coloration concomitante du ribose et du ribodésosé sur la même préparation avec les fluorones.

Pour les réactions nucléotidiques et glucidiques : celles-ci, plus complexes reposent sur l'emploi de la réaction cytoplasmale en trois phases successives : 1°) recherche globale des acides nucléiques et tous les dérivés - 2°) séparation et clivages des acides ribonucléiques par les enzymes avec coloration des nucléotides 3°) Dissolution par les sels biliaires ou agents chimiques des nucléotides, avec contrôles colorés classiques.

Pour la caractérisation des nucléotides, nous nous sommes aidé d'un certain nombre de critères chimiques, et de la confrontation de nos résultats de détection, avec les recherches et dosages biochimiques de ces substances au niveau des mêmes tissus étudiés.

Nos techniques des fluorones, avec les diverses réactions ont été appliquées avec fruit à l'étude des noyaux cellulaires, depuis les Bactéries, Levures, Algues, Champignons, Végétaux supérieurs, jusqu'aux cellules animales normales ou pathologiques - et à l'étude des constituants cytoplasmiques en particulier des acides ribonucléiques et leurs dérivés-

Une des applications les plus intéressantes et qui nous a amené à l'étude de la rétine concerne la spermatogénèse et la tête du spermatozoïde mûr dans lequel nous avons trouvé la présence de dérivés ribonucléiques (retrouvés aussi par des variations de coloration dans les techniques histologiques normales et par dosages et expérimentations biologiques). Cette présence des nucléotides ribose au niveau des glandes génitales, que nous avons établie, montre la valeur de la méthode et, a, du même coup, permis de signaler ici une relation existant entre la vision de la lumière et des couleurs, et les fonctions génitales. Cette relation nouvelle d'ordre chimique et physiologique, est liée par certains côtés avec les réflexes opto sexuels (R. Collin) (1938), et les réflexes optohypothalamopituitaires (J. Benoit 1938), mais s'en distingue par un mécanisme biochimique général où l'on observe un balancement entre l'activité sexuelle et la vision.

Avec P. Sentein (1947), nous avons étudié les cellules génitales et les spermatozoïdes des Mammifères, de l'Homme, et des Batraciens à activité sexuelle saisonnière ; et nous avons constaté avec les méthodes des fluorones, chez le Rat par exemple, que les noyaux au repos ou en mitose des spermatogonies, spermatides, sont nettement colorés en bleu et riches en acides A.D.N. tandis que les têtes des spermatozoïdes pouvaient avoir une couleur variable bleue si la spermie est jeune avec un reste de cytoplasme adhérent, rouge au contraire, quand elle a atteint son degré de maturation définitif.

Cette observation était contraire aux connaissances classiques selon lesquelles la tête du spermatozoïde est formée uniquement d'acide A.D.N. En étudiant les différents stades de l'onde spermatogénétique on retrouvait ce phénomène. Les spermatozoïdes éliminés dans la couche des détritits vers la lumière des tubes sont colorés en rouge. Des constatations analogues ont été retrouvées dans le testicule humain, dans le sperme à l'émission où l'on constate que la majorité des têtes mûres sont plus souvent rouge orangé, mais un certain nombre restent bleu violacé par insuffisance de maturation. Cette observation est analogue à celle de Joel (1944) qui signalait que les spermatozoïdes peuvent être, soit acidophiles, soit basophiles. Le Professeur Dubreuil (1947) a confirmé nos observations en rappelant les résultats antérieurs de Regaud (1901) dans le même sens. Moricard (1947) pense que nos résultats se rapportent à un problème très complexe des conditions de synthèse des acides nucléiques au cours de la spermatogénèse et a confirmé la présence dans ses recherches d'un nombre non négligeable de spermatozoïdes Feulgen négatif sur des frot-tis normaux.

Chez les Batraciens, l'examen, des organes, montre, en gros les mêmes résultats avec la maturité sexuelle. De nombreux arguments

nous font penser à l'existence d'une faible quantité d'acide ribonucléique et une plus grande quantité de ses dérivés nucléotidiques.

Les travaux de J. Brachet (1941) de T. Caspersson, (1941) de Jenkinson (1941) nous inclinent dans cette manière de voir, il y aurait une transformation soit des acides A.R.N., soit des acides A.D.N. en leurs dérivés plus simples, à moins qu'ils ne soient apportés par le milieu intérieur vers la période de maturité sexuelle.

Nos résultats des nucléotides dans la spermatogénèse ont été confrontés et étayés par les travaux de Balbiani 1879, Hermann 1892 Rehaud 1901, Hesse 1910, Schultze 1918-20, Marza 1931, Caspersson 1941, Tuzet 1933, Boivin et Vendrely 1945, Lardy, Hansen et Phillips 1945, Mann 1945, Ivanow 1945, Kanigina et Tvanow 1945, Ivanow, Kassavina et Fomenko 1946. Ces derniers auteurs signalent, dans la tête des spermatozoïdes de divers animaux, la présence des composés nucléotidiques à ribose facilement hydrolysables comme l'A.T.P. qui d'après eux contribuent à la motilité du spermatozoïde. Si on bloque d'après ces auteurs, la glycolyse de ces substances par le bromoacétate, qui ne gêne pas la phosphorylation, les spermatozoïdes perdent leur motilité et, dégèrent. L'apport de ces auteurs est d'un intérêt réel pour comprendre la relation entre les glandes sexuelles et la vision. Plus récemment, Karli, (1952), dans une étude sur la rétine sans cellules visuelles a fourni le trait d'union. Pour obtenir expérimentalement des Souris sans cellules visuelles, il a essayé de bloquer la glycolyse, et les cellules visuelles dégèrent spécifiquement sous l'action du monoiodacétate, mais en même temps il a obtenu l'altération des cellules visuelles et des cellules génitales. C'est la constatation de ces relations qui nous a amené à l'étude des nucléotides des cellules visuelles et par la suite à l'étude de la vision, (en particulier la sensibilité de l'oeil et la vision des couleurs). Les nucléotides à ribose, sous la forme de diphosphonucléotides ou coenzymes dans la vision participent avec les autres substances et enzymes au processus de l'élaboration des pigments visuels des bâtonnets et des cônes.

II - APPLICATION DES FLUORONES AU COURS DE REACTIONS CYTOPLASMAL
ET NUCLEOTIDIQUE A L'ETUDE HISTOCHIMIQUE DU CRISTALLIN ET
DE LA RETINE, CONCURREMMENT A D'AUTRES TECHNIQUES.-

A - Matériel, technique et méthode de recherche.

La 9 phényl, 2,3,7 trihydroxy, 6 fluorone a été utilisée surtout dans ces recherches. Les animaux étudiés ont été des Batraciens (des Grenouilles : Rana esculenta L., Rana temporana L.; des Pélobates, Pélodytes, des Crapauds : Bufo bufo L.; des Tritons), des Reptiles (Lézards : Lacerta viridis L.), des Chéloniens (Tortues Cestus europeus L.), des Poissons (Gambusia affinis L.; des "Guppy" : Lebistes reticulatus L.), des Oiseaux (Poulet, Pigeon), des Mammifères (Rat, Cobaye, Lapin, Chien, Mouton, Porc, Taureau, Singe, Cynocéphale) et chez l'Homme.

L'application de nos techniques dans ces différents cas a été longue et délicate, car chaque oeil, selon son origine et sa taille, exige des méthodes appropriées de préparation, de fixation et d'inclusion pour l'étude cytologique et cytochimique.

La fixation a lieu en général à l'obscurité, à l'aide de formol salé, formol calcium, liquide de Helly avec post-formolisation, liquide de Carnoy, ou bien des fixateurs spéciaux renfermant soit des ions insolubilisants des nucléotides, soit des agents dissolvants comme l'acide trichloracétique. Le liquide de Bouin a été aussi utilisé.

Les yeux des animaux, énucléés ou en place, sont plongés, à l'obscurité, et après incision de la cornée dans le liquide fixateur choisi, pendant un temps variable nécessaire à son durcissement. Ensuite, en lumière rouge, on finit d'enlever la cornée, l'iris, le cristallin et on continue la fixation sur le restant, de façon normale.

Pour les yeux plus gros, après durcissement préalable, on découpe la cupule pour prélever les sections méridiennes horizontales ou verticales en évitant de trop les traumatiser. Les yeux "in toto" ou leurs sections sont repérés au cours du lavage pour une orientation convenable. Lors des traitements on évite le plus possible le décollement de la rétine et l'introduction des bulles d'air.

L'inclusion à la paraffine avec l'acétate d'amyle est utilisée pour les yeux de petite taille, la technique au méthyl salicylate de celloïdine que nous avons mise au point avec Sentein s'est montrée supérieure pour les matériels plus fragiles, comme les yeux humains- en évitant les décollements et les déformations. Au cours de cette préparation, depuis son entrée dans l'alcool jusqu'à l'inclusion, la pièce doit rester dans le même récipient à parois minces qui sera sacrifié.

Les coupes sont faites à 5 μ et à 2 ou 3 μ pour l'examen cytologique délicat, collées avec soin et bien séchées. Des coupes à la congélation ont été faites dans des réactions de contrôle, mais leur déplissement et étalement sont très délicats aussi ne les a-t-on utilisées qu'exceptionnellement.

Au cours de notre étude de la rétine, nous avons appliqué les techniques des fluorones concurremment à d'autres techniques (vert de méthylepyronine, bleu de toluidine, carmin de Best, réaction de Bauer, coloration au Soudan, bleu de Nil), à des colorations histologiques diverses, (hématoxyline forte associée avec le vert lumière, coloration à l'azocarmin de Heidenhain). Les réactifs histochimiques ont été couplés avec l'action des diastases des sels biliaires, ou des agents dissolvants.

La détection histochimique des acides A.R.N., des nucléotides des éléments de l'oeil est basée sur leur localisation "in situ" leur caractérisation et leur différenciation des dérivés glucidiques cellulaires.

La caractérisation et la différenciation des acides A.R.N. est axée principalement sur l'action de la ribonucléase spécifique et la disparition de la coloration avec les colorants classiques ou avec les méthodes des fluorones, et secondairement sur la différence de solubilité des acides nucléiques et des nucléotides sous l'action, soit des sels biliaires, soit des agents dissolvants des nucléotides.

Les nucléotides à ribose sont différenciés des acides A.R.N.

et des autres produits par les critères chimiques suivants :

- 1°/ Conservation par les fixateurs métalliques des nucléotides.
- 2°/ Coloration en rose par la 9 phényl, 2, 3,7 trihydroxy, 6 fluorone
- 3°/ Solubilisation par l'acide trichloracétique en solution concentrée 10 à 15 %.
- 4°/ Solubilisation rapide par les sels biliaires.
- 5°/ Solubilisation par la digitonine à 2 %.
- 6°/ Non coloration par les couleurs basiques, ou les colorants de Unna.
- 7°/ Présence positive confirmée par l'analyse biochimique au niveau des mêmes tissus.

Nous avons utilisé, au cours de nos recherches sur les éléments de l'oeil, toutes ces techniques en méthode convergente, en les adaptant à chaque cas, et en serrant de très près les techniques en vue d'une localisation correcte.

B - Etude histochimique du cristallin.

Dès 1945, la coloration rouge orangé du cristallin, observée chez les larves de Tritons, de Pélobates, Pélodytes, chez les Grenouilles et Crapauds, avait attiré notre attention. Nous l'avions attribuée à l'acide A.R.N. mais comme elle résistait à l'action de la ribonucléase, nous avons été orienté vers les nucléotides à ribose et la caractérisation en a été faite par la suite avec nos réactions nucléotidiques. Au niveau des yeux de Grenouille, le cristallin apparaît rouge orangé, les fibres cristalliniennes à protoplasme finement granuleux sont colorées de façon presque uniforme, la région centrale est rose orangé plus foncé. L'épithélium antérieur est bien coloré, la cristalloïde est à peine teintée. Les noyaux bleu violacés traduisent la présence de l'acide A.D.N. Après action de la ribonucléase, les acides A.R.N. ont pâli au niveau des cellules de l'épithélium antérieur et des fibres cristalliniennes les plus externes. Les nucléotides à ribose persistent dans la région centrale et dans la cristalloïde. Cette répartition est confirmée par l'action des sels biliaires sur les acides A.R.N. et les nucléotides. On note, en plus, la présence dans le cristallin (fibre cristalliniennes et cristalloïde) de substance mucoïde contenant de la glucosamine, se traduisant par une coloration mauve pâle à rose vineux avec les fluorones; cette substance augmente dans les cristallins au cours des cataractes humaines, avec une diminution de l'acide A.R.N. et des nucléotides à ribose. Cette substance mucoïde résiste à l'action de la ribonucléase et des sels biliaires.

Nos résultats sont conformes à ceux des biochimistes, le cristallin contient 35 % de protéine totale dont une substance solide albuminoïde pouvant renfermer des mucoïdes, et deux substances solubles la cristalline A 6,8 % et la cristalline B II %.

Dans le cristallin normal prédominent les cristallines solubles positives à la réaction du nitroprussiate alcalin par leur glutathion favorisant de la respiration tissulaire. Au cours des troubles métaboliques cette cristalline se transforme en albuminoïde insoluble, négative au nitroprussiate. Cette baisse en glutathion entraîne une baisse respiratoire avec insolubilisation de la protéine et surcharge de mucoïdes ce qui opacifie le cristallin.

D'après nos observations la transformation pathologique de la cristalline riche en arginine et pauvre en glyocolle, serait liée aussi avec les ferments respiratoires qui contiennent des lactoflavines à ribose, dont l'altération ou la dégradation anormale entraîne la libération de l'acide phosphorique et diminue le p H = de 7,5 à 6,8.

Nos résultats histochimiques sont confirmés également par les recherches de Mandel Nordmann et Zimmer (1949) qui ont dosé et trouvé par exemple dans le cristallin du Boeuf 42 à 47 mg d'acide ribonucleique pour cent de substance fraîche, dans celui du Mouton 33 à 36 mg %.

Au cours de leur étude sur la répartition des différentes fractions de phosphore acidosoluble du cristallin après hydrolyse acide ils signalent la présence de l'A.T.P. et d'autres nucléotides à ribose (dosés sous la forme de pyrophosphates). Ils en trouvent respectivement chez le Boeuf 5,46 mg % et 8,56 % - chez le Lapin 13,6 % et 12,7 % - chez le Rat 7,25 % et 8,54 % - Ces deux sortes de dérivés nucléotidiques représentent une fraction importante du phosphore acidosoluble du cristallin.

Ces résultats postérieurs à nos recherches renforcent et confirment nos observations sur le cristallin des Batraciens et des Reptiles après détection des nucléotides.

C - Etude histochimique de la rétine.

Examinons maintenant la rétine, chez la Grenouille par exemple, et étudions la localisation des acides A.R.N. et des nucléotides à ribose. Ils se trouvent tous deux à l'état diffus dans toute l'épaisseur de la rétine, avec une localisation plus nette au niveau du cytoplasme périnucléaire des cellules multipolaires et bipolaires les plus internes. On les retrouve sur les fibres de

Müller à l'état moins condensé. Au niveau des cellules visuelles l'acide A.R.N. est localisé au voisinage des noyaux des bâtonnets et des cônes.

Au niveau des cônes l'acide A.R.N., détecté par nos réactions et par la coloration au vert de méthyle pyronine, est localisé entre le noyau et le segment interne. Il se présente soit sous la forme d'une travée cytoplasmique qui va en s'élargissant du noyau vers le milieu du segment interne, soit sous la forme d'une coiffe conique dont la base repose sur le noyau et dont la pointe est tournée vers le segment interne. Le segment externe du cône, de taille plus réduite, est coloré par les fluorones de façon plus légère que le segment interne. A la séparation des deux segments, dans la région de l'ellipsoïde on note dans certains cônes la présence de vacuoles plus ou moins grosses et vidées de leur contenu.

Au niveau du bâtonnet, la coiffe d'A.R.N. plus réduite englobe le noyau, et ne pénètre pas aussi profondément dans le segment interne. Vers le milieu de celui-ci, l'acide A.R.N. diminue et paraît se transformer ou se détruire. Dans le segment externe la réaction cytoplasmale nettement rouge orangé est plus intense que dans le segment interne. Cette coloration du segment externe n'est pas homogène. Elle y montre des espaces clairs transversaux alternant avec des bandes plus sombres le tout ayant l'aspect de disques empilés et reliés par la substance nucléotidique de répartition apparaissant ainsi plus ou moins périodique. On y trouve en outre dans la masse, de nombreuses vacuoles, petites et claires. Avec la coloration au vert de méthyle-pyronine, les acides A.R.N., dans le segment externe des bâtonnets ne sont qu'à l'état de traces bien moindres que dans le segment interne.

Dans les cônes et les bâtonnets, les segments externes renferment surtout des nucléotides à ribose, ceux des bâtonnets sont plus colorés. Les segments internes renferment par contre une quantité non négligeable d'acide A.R.N. et moins de nucléotide, ceux des cônes apparaissent plus colorés. La coloration du ribose lors de la détection des nucléotides et de l'A.R.N. montre à première vue une distribution versée dans le cône et dans le bâtonnet.

La substance du segment externe des bâtonnets est plus fortement colorée, d'autant plus que l'élément est recouvert ou protégé par les franges pigmentaires, ce qui doit traduire la plus grande sensibilité des bâtonnets vis à vis de la lumière que des cônes.

La coloration plus faible de la substance des cônes, moins recouverts par les franges pigmentaires, doit traduire leur moindre sensibilité cependant au niveau des cônes de grande dimension la coloration du ribose légèrement plus nette, ainsi que la présence des franges pigmentaires protectrices semblent indiquer une certaine parenté entre la substance des cônes et celle des bâtonnets, avec une transition entre les cônes de petite, moyenne, grande dimension et les bâtonnets, ou bien une différence d'aptitude de réponse.

Après action de la ribonucléase, et réaction cytoplasmale, les acides ribonucléiques disparaissent dans les différentes parties de la rétine, seule persiste, au niveau des bâtonnets et des cônes une coloration due aux nucléotides.

Dans les bâtonnets cette coloration, vive dans le segment externe l'est un peu moins dans les régions découvertes et libres de pigments proches de sa base. Celle du segment interne est affaiblie de façon très notable, l'acide nucléique ayant été enlevé par la ribonucléase.

Dans le cône on observe la même répartition, signalée. Dans certaines parties du segment externe protégées par le pigment on note une coloration plus nette. La région de l'ellipsoïde sous-vacuolaire est plus colorée que la région de la myoïde.

La substance des cellules visuelles résistant à la ribonucléase observée au niveau des segments externes des cônes et surtout des bâtonnets disparaît sous l'action des sels biliaires (déhydrocholate) elle serait de nature ribonucléotidique.

Au niveau des cellules sensorielles, il existerait donc des nucléotides à ribose. Les différences de coloration et de teneur des nucléotides observées assez nettement dans les segments externes des bâtonnets et des cônes doivent traduire leur différence de nature, ou de fonctionnement. Ce résultat est à rapprocher de celui des anciens auteurs qui localisent le pourpre rétinien au niveau du bâtonnet et signalent l'existence d'un pigment différent, qui ne prend pas le chlorure de platine, au niveau des cônes. D'après cette affinité chimique pour le platine les auteurs avaient pensé qu'il existait une différence tranchée entre la substance des bâtonnets et celle des cônes.

Dans nos réactions, il existerait au contraire une certaine parenté entre les cônes et les bâtonnets. Seule une différence dans l'intensité de leur coloration les sépare. Ce fait traduit-il

une différence de constitution entre le pourpre rétinien (rhodopsine) et la substance des cônes (todopsine) ? ou bien simplement une différence en besoin de ces deux substances en nucléotides pour leur fonctionnement différent ?

On sait, en outre, la parenté ontogénique existant entre les cônes et les bâtonnets, ces derniers pouvant être issus des cônes.

Il existerait également parmi les cônes de la rétine divers types avec des différences de coloration, les plus grands paraissant se rapprocher des bâtonnets.

III - ETUDE DES PIGMENTS VISUELS.

Avant d'aller plus loin, pour pouvoir interpréter avec fruit les résultats des détections histochimiques, et entreprendre des expérimentations physiologiques sur la sensibilité de l'oeil et la vision des couleurs, examinons les acquisitions faites par les anciens auteurs sur le pourpre rétinien et les travaux les plus récents dans le domaine de la photochimie de l'excitation visuelle concernant les substances des bâtonnets et des cônes.

A - PIGMENTS DES BATONNETS - RHODOPSINE ET PORPHYROPSINE.

La rétine est sensible à la lumière. Les recherches de Boll 1876 et de Kuhne (1877) ont montré qu'il doit y avoir un processus chimique intermédiaire entre l'énergie physique des vibrations lumineuses et l'énergie nerveuse qui donne les sensations. Les auteurs avaient remarqué que le segment externe des bâtonnets, à l'obscurité, se colorait vivement en rouge. Cette substance colorée fut appelée pourpre rétinien ou érythropsine, ou rhodopsine. Ils ont vu qu'elle se décolorait vite à la lumière et devenait inaltérable si on la fixait à l'obscurité avec de l'alun (optogramme de Boll).

D'après les travaux de Wald (1937) le pourpre rétinien serait un chromoprotéide ayant pour groupement prosthétique un coroténoïde (rétinène) qui, sous l'influence de la lumière, se transforme en vitamine A.

La rhodopsine a été préparée par macération à l'obscurité de rétines fraîches dans une solution de sels biliaires de 3 à 5 %. Elle est extraite ensuite soit par une solution d'ether de pétrole, soit par une solution aqueuse de digitonine à 2 %. Après dialyse et évaporation dans le vide, on obtient ainsi une poudre de couleur pourpre.

Plus récemment Radding, Wald et ses collaborateurs (1956) l'extraient en séparant les bâtonnets des éléments de la rétine, fraîche ou durcie à l'alun par centrifugation différentielle. Les fragments des bâtonnets sont lyophilisés, et traités soit par une solution à l'éther de pétrole, soit par une solution de digitonine à 2 % qui donne de meilleurs résultats. Cette solution brute peut être purifiée par une extraction secondaire conduisant à un produit plus pur.

I/ Travaux sur la Rhodopsine.

= Historique -

La rhodopsine a été étudiée par de nombreux auteurs.

En 1851 Müller a vu qu'elle possédait une couleur rouge, en 1876 Boll remarqua que la substance rose de la rétine jaunissait rapidement à la lumière et qu'elle n'existait que dans les rétines à bâtonnets, il l'appela le pourpre rétinien. Par la suite Kühne et ses collaborateurs dès 1877 démontrèrent que cette substance existait dans la rétine humaine. Ils parvinrent à dissoudre le pourpre rétinien dans des solutions de sels biliaires qui gonflent les bâtonnets et libèrent le produit. Sur ces solutions Kühne étudia sa décoloration et essaya d'en déterminer le spectre d'absorption. Il fut gêné par l'apparition du jaune visuel qu'il décrivit comme le premier produit de décoloration du pourpre. Sous l'action de la lumière le jaune visuel se décompose en un autre produit : le blanc visuel incolore, qui possède encore une certaine fluorescence verdâtre plus accentuée que celle du jaune visuel, lui-même plus fluorescent que le pourpre rétinien dont la fluorescence est blanchâtre. Chez certains Poissons, Kühne (1879) a trouvé un pigment visuel différent du pourpre et qui présentait une coloration violette : la porphyropsine. Son spectre d'absorption a été établi en 1926 par Kottgen, il diffère de celui du pourpre par un décalage de 30 m μ vers les grandes longueurs d'onde. La courbe du pourpre humain fut déterminée par König (1903) qui montra sa ressemblance avec la courbe de visibilité scotopique. Trendelenburg en 1904 retrouva cette analogie et en déduisit que le pourpre rétinien était la substance photochimique des bâtonnets responsable de la vision nocturne. Garten (1906) étudia le cycle du pourpre et signala la réversibilité du jaune visuel à l'obscurité et le pouvoir de régénération même en solution ; le blanc visuel ne peut se régénérer pour reconstituer le pourpre si la rétine est séparée de l'épithélium

pigmentaire, et par là, de la circulation sanguine qui lui apporte certaines substances indispensables. Sugita (1926) a apporté une preuve du rôle du pourpre en vision nocturne en faisant ingérer des sels biliaires à des Rats, ce qui s'est traduit par une héméralopie passagère.

Différents auteurs : Nakashima (1929), Krause (1934), (Chase 1936), ont étudié le rôle du pH dans l'apparition des produits colorés dérivants de la dégradation du pourpre rétinien.

Des travaux remarquables ont été entrepris en 1937 par Lythgoe avec l'extraction du pourpre rétinien par la digitonine, et l'étude de la courbe d'absorption du pourpre rétinien et de ses dérivés de dégradation en fonction du pH. Il signale que ces produits se comportent comme des indicateurs colorés. A côté de "l'indicateur jaune", il a trouvé un produit intermédiaire "l'orangé transitoire" ou "l'orangé visuel", qui se dégrade même à l'obscurité pour donner le "jaune visuel". La courbe de l'orangé transitoire présente un maximum vers 475 m u. Le pourpre rétinien se transforme en orangé transitoire sous l'action de la lumière et sa dégradation se continue avec la température et l'alcalinité. Il serait stable à l'obscurité en milieu neutre. S'il subit les variations de pH, il se transforme alors en jaune visuel.

En 1950 Segal a montré que le pourpre de la rétine étalée de Grenouille, se transforme en "orangé transitoire" et en "jaune indicateur", en outre que l'orangé transitoire que Lythgoe trouvait insensible à la lumière blanche était lui-même photosensible, mais avec la lumière bleue. Ségál se demande si le pourpre ne posséderait pas plusieurs liaisons photosensibles ; ou bien une seule liaison susceptibles de se dégrader en plusieurs étapes.

Avec Berger (1949), Ségál a montré que

- 1°) si la photolyse préalable du pourpre était forte, le stade de l'orangé transitoire pouvait manquer, et on avait directement le jaune indicateur absorbant la couleur violette ;
- 2°) si la photolyse préalable était faible, la dégradation du pourpre donnait de l'orangé transitoire avec un maximum d'absorption variable qui se fixait cependant à 670 m u. Le pigment maculaire d'après Ségál serait riche en orangé transitoire, et présente un deuxième maximum d'absorption dans le rouge orangé vers 640 m u. Si Wald n'avait pas retrouvé ce deuxième maximum c'est parce que sa méthode d'extraction du pourpre par l'éther du pétrole ne convenait pas pour entraîner "l'orangé transitoire" non soluble.

- Recherches personnelles. -

=====

Vers 1951, nous avons entrepris l'étude des bâtonnets et du pourpre rétinien. Selon les travaux de Wald 1937 le pourpre rétinien était considéré comme un chromoprotéide ayant pour groupement prosthétique un caroténoïde. Ce dernier se dégrade sous l'action de la lumière pour donner le rétinène et la vitamine A. Cette vitamine A a été localisée par P. Berger (1930) au niveau des cellules rétiniennes, en particulier dans le segment externe des bâtonnets des Mammifères (Rat), par son affinité pour le chlorure de platine et la coloration secondaire avec le vert de méthyle pyronine.

D'autre part, le rétinène est mis en évidence par le trichlorure d'antimoine qui donne "in vitro" une coloration bleue caractéristique. La présence du groupement prosthétique des caroténoïdes dans la constitution du pourpre rétinien est, pour Berger, une réalité biochimique et histologique.

Les caroténoïdes sont donc nécessaires à la formation du pourpre rétinien et la Vitamine A joue un rôle important dans la vision, sa carence provoque l'héméralopie. Des dosages colorimétriques directs de Fridericia et Holm (1925) sur la rétine du Rat carencé ont montré la baisse de la teneur en pourpre. Il en est de même des travaux de divers autres auteurs comme Stenius (1941). Le pourpre rétinien au niveau du bâtonnet renferme des caroténoïdes dans sa molécule, mais ils ne sont qu'une de ses liaisons. Sous l'effet de la lumière, les caroténoïdes se dégradent pour donner de la vitamine A, et l'on ne voyait pas encore très bien leur relation dans les deux degrés de dégradation du pourpre rétinien, pour former l'orangé transitoire, et transformer ce dernier sous l'action de la lumière bleue en jaune indicateur. Les caroténoïdes ne peuvent jouer seuls, les nucléotides au niveau des cellules visuelles doivent lui avoir un rôle.

On sait, comme nous l'avons signalé dans nos premières publications, qu'il existe des ribonucléotides sensibles à la lumière.

Des biochimistes ont pu démontrer in vitro, avec les nucléotides de type adénylique, leur sensibilité lumineuse, avec formation d'ammoniaque et d'un composé phosphoré combiné à du ribose que nous avons pu retrouver effectivement dans les solutions de nucléotides adényliques, mais pas de façon instantanée.

L'examen de nos préparations histochimiques nous a montré que, dans le processus d'élaboration ou de dégradation du pourpre

rétinien, il doit y avoir plusieurs degrés de photolyse. A côté de la dégradation des caroténoïdes, il doit y avoir une intervention concomitante des nucléotides à ribose et d'autres substances sensibles à la lumière. La présence de la coloration du ribose dans le segment externe des bâtonnets plus riche dans les parties recouvertes et protégées par le pigment, et moins forte dans les autres suggère que la dégradation photolytique doit provoquer une certaine altération ou consommation des nucléotides à ribose dans ces régions. La variation de coloration pourrait être attribuée à la différence de liaison ou de relation du pourpre rétinien et de ses produits de dégradation, comme l'"orangé transitoire" et le "jaune indicateur", avec les nucléotides. L'"orangé transitoire" serait aussi lié à la présence des nucléotides à ribose. Cette liaison serait moins importante qu'avec le pourpre rétinien.

De plus, la différence de localisation des nucléotides au niveau du bâtonnet et des cônes traduite par des intensités colorées variables, semble être en rapport, selon nous, avec les phénomènes suivants.

L'épithélium pigmentaire possède des grains de pigments qui, selon Pappenheim, (1849) entourent l'extrémité du bâtonnet comme le calice d'une fleur et y adhèrent. Cet épithélium se sépare facilement d'après Trendelenburg (1904) dans la région "obscurée", tandis qu'il y adhère plus fortement dans la rétine "éclairée". Selon Detwiller et Laurens (1920) le pigment recouvrirait entièrement les cônes dans la rétine éclairée, jusqu'à la moitié du segment interne. Dans la fovéa il recouvrirait seulement les segments externes. Le pigment a été vu par ces auteurs se mouvoir de façon active sous l'action de la lumière; ils l'ont observé surtout chez le Lézard de Chine : Er. mias Argus L. et chez l'Alligator.

Ovio (1927) qui a fait une étude approfondie des mouvements des pigments pense que leur migration est en rapport avec la protection des éléments sensibles de la rétine contre la grande lumière, tout comme les mouvements pupillaires. Cette protection par les pigments a pu être observée chez de nombreux animaux, Invertébrés, (Céphalopodes) ainsi que chez les Vertébrés. Les cellules de l'épithélium pigmentaire ne participent pas directement au phénomène, étant donné que leurs prolongements se trouvent constamment insinués entre les segments externes des cellules rétiniennes. C'est surtout les pigments qui migrent pour donner la protection. Cette migration protectrice est plus nette au niveau des bâtonnets que des cônes. Ceci explique la sensibilité plus grande des bâtonnets et leur

besoin en apport extérieur, c'est justement ce que nous avons observé au niveau de la régine de Grenouille (Rana esculenta L.) au cours de nos détections chimiques. Elles montrent que le segment externe des bâtonnets est bien plus coloré, lorsqu'il est entouré par des pigments. Le bâtonnet est donc plus sensible que le cône. Celui-ci, situé plus bas est peu recouvert par les pigments. Seuls les cônes de grande dimension sont en rapport plus étroit avec eux. De plus ils sont colorés par les fluorones de façon plus nette que les autres cônes et moins cependant que les bâtonnets.

Cette répartition de coloration rose orangé légèrement différente et inversée du cône, associée à une protection moindre par les franges pigmentaires, montrerait, de façon évidente, la sensibilité plus atténuée du cône vis à vis de la lumière. Du fait de la coloration du ribose il existe aussi une certaine parenté entre les cônes et les bâtonnets, seulement dans les cônes, la teneur des nucléotides à ribose serait plus faible ou leur structure moins condensée. Sachant que le pourpre rétinien donne l'orangé transitoire, encore sensible à la lumière bleue (Segal) et à l'action de la température, (Lythgoe) on peut concevoir qu'au niveau des cônes (bleu pour ceux de grande dimension, il puisse y avoir des dérivés sensibles aux couleurs ou à des radiations colorées différentes au niveau des autres cônes), selon la proportion des mélanges de produits de dégradation : le jaune visuel, ou le blanc visuel, que Lythgoe a démontrés posséder des colorations variées avec le p H. De ce fait ils pourraient absorber les radiations correspondantes. De plus ces produits de dégradation présentent une fluorescence verdâtre plus marquée pour le blanc visuel que pour le jaune visuel. Or, le pourpre rétinien lui aussi, possède une fluorescence semblable (verdâtre, c'est-à-dire qu'il renvoie une lumière colorée différente). Ces notions peuvent expliquer la sensibilité des bâtonnets à certaines couleurs et surtout celle des cônes, dont la coloration par les fluorones, nous suggère qu'ils sont formés par des produits légèrement plus dégradés que le pourpre rétinien, du moins dans leur relation avec les nucléotides.

Nos résultats s'éclairent à la lumière des travaux de Granit (1947-1948). Par des enregistrements électriques cet auteur a trouvé, au niveau de la rétine de Grenouille excitée par les radiations lumineuses une courbe en cloche analogue à celle de la visibilité scotopique ou photopique, avec un maximum aux environs de 560 m u. Elle correspond à la réponse des dominateurs, ainsi que d'autres éléments. Ces derniers répondent aux lumières spectrales, et sont appelés modulateurs. Leur maxima de réponse se trouvent dans la région du bleu, du vert, du jaune, et du rouge. Il existerait une certaine dualité entre les cônes et les bâtonnets. Les bâtonnets

donnent deux types de réponse et différencieraient les uns des autres par une activité spéciale aux niveaux élevés. Pour expliquer ce fait on avait émis l'hypothèse qu'il existerait deux types de bâtonnets dont l'un posséderait cette activité particulière.

Dans le dessin de l'enregistrement des quatre sortes de modulateurs on trouve, pour le groupe bleu un maximum entre 440 et 470 m μ , le groupe vert 520 - 540, le jaune orangé un maximum à 575, le rouge à 610.

La réponse des modulateurs montre une parenté entre les pigments des modulateurs des trois derniers groupes (rouge-jaune-vert) tandis que le premier groupe (bleu) serait peut-être apparenté à l'orangé transitoire.

Ces résultats correspondent avec nos observations des coupes, où nous voyons des bâtonnets typiques et des bâtonnets de type "massue"; ces derniers sont moins sensibles à la lumière et résistent assez à un éclaircissement prolongé.

Au sujet des modulateurs qui ont des maxima dans les différentes régions du spectre, on peut concevoir, d'après nos réactions que la rétine de la Grenouille est susceptible de répondre aux lumières colorées correspondantes. L'appareillement de la réponse du premier groupe de modulateurs des travaux de Granit, répondant dans le bleu, avec la réponse de l'"orangé visuel" de Lythgoe paraît concorder avec nos observations histochimiques des nucléotides avec les fluorones : au niveau des cônes de grande dimension, et fournirait un argument en faveur de notre hypothèse de travail : qu'ils posséderaient sans doute cette substance. Plus loin dans notre expérimentation, ces cônes se sont montrés sensibles à la lumière bleue, tout comme l'orangé transitoire, dans les expériences de Segal sur la rétine étalée de Grenouille.

Nos résultats de détection des nucléotides des cellules visuelles montrent la participation des nucléotides à ribose, et nous permettront d'aller plus loin dans l'étude de la réponse de ces éléments.

En effet, nous avons déjà eu une preuve de la validité de nos réactions dans l'étude du cristallin et de la spermatogénèse où les biochimistes, comme nous, trouvent et confirment l'existence de nucléotides à ribose.

A propos de la spermatogénèse, rappelons pour mémoire, les travaux de différents auteurs : R. Collin (1938), J. Benoit (1937), Karli (1952) et nous-même. On connaît le rapport entre les organes génitaux et la vision par les différents réflexes ; mais ceux-ci, le

plus souvent vont dans le même sens que la vision, tandis que nos observations histochimiques et histophysiologiques, il semblerait qu'il y ait un rapport différent. Il existe un métabolisme biologique et biochimique avec un balancement. Nous allons les exposer afin de montrer que les méthodes de détection des fluorones sont valables.

On connaît les études de Benoit depuis 1937 sur les facteurs externes et internes de l'activité sexuelle. Il a étudié le mécanisme de la stimulation par la lumière sur l'activité sexuelle chez le Canard domestique en relation avec l'hypophyse et l'hypothalamus; mais le rôle de ces deux formations n'est pas le seul. Il semblerait qu'il existe une corrélation biochimique directe entre les éléments visuels et gonadiques par l'intermédiaire des nucléotides à ribose.

En effet Karli (1952) a pu démontrer que les Souris "Rodless" (à rétine génétiquement anormale - sans cellules visuelles), ne présentent pas de troubles structuraux ou fonctionnels au niveau de la sphère génitale; et même élevées à l'obscurité complète elles sont normales. La lumière ne joue pas un rôle très important dans le déterminisme du fonctionnement normal de l'appareil génital. Le trouble pathologique des anomalies présentées par des Souris "Rodless" serait dû à un trouble métabolique localisé. En se basant sur les travaux de Wartburg, Kerly, Noell, Schubert Bornscheim, (1951) il a utilisé les inhibiteurs fermentaires pour essayer de réaliser la maladie, et obtenir des animaux sans cellules visuelles.

En administrant par voie intraveineuse (20 mgr par Kg) le monoiodacétate de soude (très voisin du bromoacétate dont nous avons déjà signalé l'effet sur les spermatozoïdes) il a obtenu une dégénérescence élective des cellules visuelles par blocage des réactions photochimiques plus directement que par l'inhibition générale de la glycolyse car le reflexe pupillaire est aboli immédiatement ainsi que l'activité électrique de la rétine.

Mais Karli, (1958), par la suite, a rejeté l'hypothèse du blocage photochimique parce qu'il a constaté un fait qui l'a troublé. En effet il signale, au cours des examens systématiques des organes, après injection de monoiodacétate, une atteinte profonde des testicules. Dans ces gonades, seuls les éléments de la lignée spermatique présentent des lésions dégénératives. La spermiogénèse est complètement arrêtée, le canal épидidymaire ne contient que des spermatides et des spermatocytes en voie de dégénérescence. Le fait de trouver une autre lésion spécifique au niveau de la lignée spermatogénétique lui fait écarter l'hypothèse du trouble photochimique. Pour nous qui avons déjà signalé la sensibilité in vitro des nucléotides à

l'action de la lumière, et la sensibilité des spermatozoïdes contenant des nucléotides sensibles au bromoacétate, le processus d'inhibition serait un processus photo inhibiteur au niveau de l'oeil, mais par l'intermédiaire des nucléotides. Le monoiodacétate, à notre avis est bien un inhibiteur fermentaire, il bloque fortement la glycolyse, mais son action se manifesterait plus particulièrement comme nous l'avons déjà signalé là où se trouvent les ferments nucléotidiques à ribose (A.T.P. des spermatozoïdes et diphosphonucléotides de la cozymase de la rétine), c'est-à-dire à l'endroit où ces échanges métaboliques des nucléotides sont les plus importants, et on ne retrouve pas d'autres lésions ailleurs, les glandes endocrines, l'hypophyse etc. sont normales. L'action du monoiodacétate dans les conditions expérimentales ne doit pas toucher le métabolisme général de la glycolyse de l'organisme d'une manière aussi rapide, puisque l'abolition du reflexe pupillaire et les signes électriques de la rétine a été immédiate. L'injection des produits antifermentaires par voie intraveineuse, qui doit, en principe intéresser tout l'organisme, ne provoque de modification qu'au niveau de la rétine et des gonades. Elle détermine le blocage dans un cas du processus photochimique et, dans l'autre cas, de la motilité du spermatozoïde ; tout cela par l'intermédiaire des diastases à structure nucléotidique (diphosphonucléotide de la rétine, acide adénosine triphosphorique des ferments des gonades). On s'explique ainsi la liaison entre rétine et gonade, et la possibilité d'un balancement entre les deux.

Ce balancement des relations rétine-gonades est illustré par les deux autres faits suivants :

1°) Trincker (1955) en étudiant le développement de la perception des couleurs, signale que Tinbergen et ses collaborateurs (1934) avaient trouvé un Papillon, le Samtfalter, démontré capable normalement de différencier les couleurs, et qui se trouve être aveugle pour les couleurs au cours du vol nuptial. Ces expérimentations reposent sur la méthode du dressage et l'utilisation de labyrinthes. Lors de l'activité génitale en même temps que l'augmentation des éléments reproducteurs, apparaît un déséquilibre au niveau de la vision. A côté de l'effet nerveux central ou hormonal, il y aurait aussi un effet biochimique qui provoque le balancement entre la rétine et les gonades.

Un deuxième exemple est rapporté par Lamotte et Vilter (1956) qui ont étudié le cycle écologique et la sensibilité rétinienne chez le Nectophrynoides occidentalis Ang. Ce bufonidé vivipare de l'ouest africain vit dans les prairies d'altitude du Mont Nimba (Guinée française). Cet animal pullule durant la saison des pluies (avril à octobre) c'est-à-dire période des accouplements et des amours. IL

disparaît complètement avant et durant la saison sèche. En l'absence de variations hygrométriques qui n'interviennent pas, les auteurs ont estimé que le facteur écologique important serait le facteur lumière. La photosensibilité rétinienne définie par le degré de pupillo-constriction est maxima chez ces animaux durant la phase hypogée du cycle (octobre à mars). Durant cette période les animaux fuient la lumière et se terrent dans les abris souterrains du mont Nimba, puis elle diminue progressivement au printemps. La diminution de tolérance vis à vis de la lumière ne saurait s'expliquer par l'augmentation lumineuse car, d'après les auteurs, elle ne varie guère durant la période des pluies. L'enfouissement des femelles à mesure qu'elles sont fécondées montre que le facteur important doit être recherché dans l'évolution de l'état interne de l'organisme.

Puisque la photosensibilité diminue et que la lumière ne gêne pas l'animal peu photophobe à la période des activités sexuelles et de la fécondation, que la photophobie revient aussitôt la fécondation, qu'elle les pousse à se terrer bien avant la saison sèche, et même avant l'automne, c'est donc qu'il existe un balancement entre les fonctions génitale et visuelle. Selon nos travaux histochimiques, les spermatozoïdes pour leur maturation présentent un plus grand besoin en A.T.P. et nucléotides à ribose, cette exigence se fait aux dépens de l'organisme et en particulier de la rétine, ce qui, amène une baisse de leur sensibilité à la lumière. Ce phénomène observé chez le Nectophrynoides occidentales Ang. pour son comportement particulier, illustre bien le processus que nous venons de dégager.

Nous n'avons pas étudié histochimiquement l'oeil du Papillon ni du Crapaud exotique, mais nous pouvons affirmer que chez les Arthropodes et les Crustacés, comme Astacus fluviatilis L., et Leander L. nous avons retrouvé la coloration rouge orangé des nucléotides au niveau des cellules à rhabdônes, il en est de même des yeux de Bubo-Lufo L., et des Rana esculenta et temporaria L.

- Travaux plus récents. -

=====

La connaissance de la rhodopsine évolue progressivement, et se précise.

Examinons à présent les travaux plus récents sur les pigments de la rétine. (Observations morphologique, physiologique et travaux biochimiques).

a) - Travaux de Walls -

Selon Walls (1942) la rhodopsine serait formée d'une protéine rougeâtre associée à un groupement hydrocarboné (vitamine A). Elle contiendrait probablement une troisième substance qui viendrait de l'épithélium pigmentaire. Le pigment rétinien de couleur rouge peut être obtenu à l'état de poudre.

La rhodopsine, de poids moléculaire 270.000, serait un complexe chimique de formule peu connue, qui contiendrait de nombreuses substances liées à un groupement essentiellement protéinique.

Du point de vue chimique, la partie protéinique rougeâtre serait liée à un groupement de caroténoïde. Cette liaison existe de façon évidente au niveau des cellules visuelles de la plupart des Vertébrés. Les caroténoïdes doivent intervenir dans sa synthèse étant synthétisés eux-mêmes par l'organisme. Chez les Mammifères, Batraciens, Vertébrés et Poissons marins, on trouve dans le pourpre de la vitamine A I, et chez les Poissons d'eau douce la vitamine A 2. De formule globale $C_{20}H_{29}OH$. La vitamine A est libre dans l'épithélium pigmentaire et combinée dans la rétine.

La rhodopsine est solubilisée et mise en liberté à partir du segment externe des bâtonnets par des substances de tension superficielle plus basse, telles que les sels biliaires, la saponine, la digitonine, l'oléate et le salicylate de soude, levain de Serpent

La rhodopsine avec le chlorure de platine forme un précipité insoluble jaune. Il a été utilisé par les anciens auteurs pour étudier le pourpre sur des préparations histologiques.

La rhodopsine peut être resynthétisée à partir des produits de décomposition avec l'intervention d'une nouvelle substance qui proviendrait selon Walls de la vitamine A et de l'épithélium pigmentaire.

Du point de vue physiologique, la rhodopsine permettant de s'adapter à l'obscurité est sensible à la lumière qui la dégrade en plusieurs substances peu colorées, et à photosensibilité plus faible. : le groupement chromophore le plus important peut être clivé en acides gras et en rouge visuel, ce dernier pouvant être transformé en jaune visuel et en jaune indicateur. Certains de ces produits ont été identifiés comme produits décomposés de la rhodopsine. Elle serait sensible à toutes les longueurs d'onde, excepté celles du rouge, qui par réflexion sur elle lui donne sa propre couleur. Elle absorbe surtout la lumière bleue-vert à 500 m u, ce qui la caractérise principalement.

Pour Walls, la rhodopsine ne serait qu'un facteur secondaire de sensibilisation, plutôt qu'une substance brute initiale, car il existe des animaux dépourvus de rhodopsine comme le Sphénodon punctatus L. le Xantusia, le Phyllorhynchus, cette absence de

rhodopsine serait peut-être due à ce que les bâtonnets de ces animaux ont une origine plus récente à partir des cônes, et qu'ils n'ont pas encore acquis la possibilité de différenciation des éléments des autres Vertébrés.

La rhodopsine, insiste Walls, ne serait rien de plus qu'un sensibilisateur, mais un sensibilisateur si puissant que son action masque la substance essentielle pour la vision et qu'on lui attribue la perception des brillances lumineuses dues, en fait, à cette autre substance. Walls signale aussi que la rhodopsine permet à la rétine de s'adapter à l'obscurité et à la lumière. Sa molécule protéique, associée au groupement caroténoïde renferme de la vitamine A importante pour la vision nocturne. Walls rappelle qu'on a voulu même lui assigner le rôle de précurseur de la rhodopsine.

B) - Travaux des biochimistes.-

Des travaux plus proches de la chimie et de la biologie ont été faits par Wald (1937-1956) et ses collaborateurs, et un certain nombre de biochimistes comme : Morton et Goodwin (1956) etc., mais pour la commodité de l'exposition nous suivons l'ordre chronologique.

Wald lui-même a travaillé en plusieurs étapes, et entre ses premiers travaux et ses plus récents un certain nombre d'autres recherches se sont intercalées. Au cours de leurs publications les auteurs, tout en étudiant la rhodopsine, ont rappelé les travaux de leurs prédécesseurs; il en résulte une certaine confusion qu'il est difficile de clarifier.

.- Obtention et constitution du pourpre.-

Wald au début de ses recherches (1935) avait étudié la constitution chimique du pourpre, extrait des rétines avec l'éther de pétrole. A partir de rétines pâlies par l'éclairement Wald a obtenu une substance jaune: le rétinène. Ce dernier donne, avec le trichlorure d'antimoine, en solution chloroformique une coloration bleue et présente dans son spectre une bande d'absorption à 364 m μ . Cette réaction caractérise les caroténoïdes.

Dans les rétines complètement décolorées par l'éclairement prolongé il ne trouve que de la vitamine A.

Le rétinène fut identifié par la suite à l'aldéhyde de la vitamine A.

C'est à partir de la comparaison des rétines sous l'effet de la lumière que Wald (1937-1956) a imaginé sa théorie : rétine "obscurée" ou peu éclairée contenant du rétinène, et la rétine complètement décolorée contenant de la Vitamine A. Selon cette théorie le pourpre subirait une transformation réversible en rétinène et protéine, ces composants pouvant d'ailleurs rester unis chimiquement, car selon Hecht et ses collaborateurs qui ont beaucoup étudié (1936-49) le pourpre et son poids moléculaire (270.000 par ultracentrifugation et diffusion), la décoloration du pourpre ne changerait pas son poids moléculaire, ce qui indiquerait une modification de structure ou des liaisons de la molécule, plutôt qu'une division ou une scission de celle-ci. Il y aurait donc modification des liens chimiques entre le noyau protéique et le ou les groupements chromophoriques, se traduisant par une variation du spectre d'absorption, et par un changement de résistance de ces liaisons permettant un départ plus facile du rétinène, pourpre restant plus ou moins intact.

Wald 1956 a montré que dans la rétine totalement décolorée, le rétinène est transformé en vitamine A inactive de façon définitive, celle-ci ne peut aider à reconstituer le pourpre et fermer le cycle de la resynthèse, que par un apport venant du sang. Cette notion sera reprise plus tard et expliquée de façon plus détaillée, mais déjà Wald avait remarqué qu'il fallait un apport extérieur, sinon le cycle ralentit. Le travail de Wald rappelle de beaucoup celui de Kühne-Garten (1939) dans lequel le "jaune visuel" correspond au mélange de protéine et de rétinène et le blanc visuel correspond à la combinaison de protéine et vitamine A.

Les travaux de Wald chevauchent avec ceux de Lythgøe, Broda, Gooedeve et Quilliam -(1937-1940) au cours desquels la courbe d'absorption du pourpre de Grenouille, extrait surtout avec la digitonine, a été établie d'une façon soignée. Ils ont aussi étudié les produits de dégradation du pourpre à différents pH, acide, neutre, ou alcalin avec mesure des maxima d'absorption qui se déplacent de la couleur jaune vers l'ultraviolet pour disparaître à un pH très alcalin. Vu ces variations, ces auteurs appellent ces produits : "indicateur jaune", "orangé visuel" etc.

La courbe spectrale de l'orangé transitoire dressée en 1938, présente un maxima d'absorption vers 475 m u. Pour ces auteurs la réaction photochimique véritable serait le passage du pourpre

à l'orangé, tandis que le passage de l'orangé à l'indicateur jaune et au blanc visuel serait secondaire. Le pourpre est lié à des groupements chromophores au nombre d'environ une dizaine, attachés au noyau protéique, chaque groupe chromatique ayant un poids moléculaire de 26.000 environ.

D'un autre côté la constitution du pourpre a été interprétée de façon différente par Krause(1942). Le groupe serait formé d'une association égale de protéine et de phospholipides. Le groupement chromophorique phospholipidique serait unique, et pèserait davantage que 26.000 puisqu'il représente la moitié de la molécule. Il serait formé par des esters analogues aux matières grasses et renfermerait en outre un radical phosphorique. Dans l'interprétation de Krause les caroténoïdes ne paraissent pas intervenir, nous y reviendrons plus loin.

A côté de la rhodopsine qui renferme de la vitamine A I (0,2 mgr pour cent grammes d'épithélium sec et seulement 0,4 mgr % par gramme de rétine de Grenouille). Wald a étudié un pigment la "porphyropsine" de la rétine des Poissons d'eau douce, dans lequel le rétinène 2 et la vitamine A 2 remplacent leurs correspondants. La courbe d'absorption de ce pigment est légèrement décalée vers le rouge. Les travaux de Wald, et sa théorie, ont été plus ou moins critiqués, car, dans son schéma esquissé plus haut, on observe qu'il ne fait aucune place pour l'"orangé transitoire", ni pour l'indicateur jaune" signalés par Lythgoe et Kühne bien avant. De plus, Krause et Sidwell (1938) en suivant le schéma de Wald (1937) ont constaté que la décoloration complète du pourpre en solution ne donne pas de la vitamine A , et l'exposition à la lumière d'une rétine de Boeuf diminue au contraire sa teneur. Les controverses restèrent en suspens. C'est plus récemment, que des travaux chimiques faits par Wald et ses collaborateurs (1956) ont apporté des renseignements complémentaires, sur les cycles de la rhodopsine, on y retrouve la place pour l'"orangé transitoire" et les autres dérivés, sous la forme de lumirhodopsine, métarhodopsine, et un mélange d'all-trans rétinène et de protéine.

.- Régénération du pourpre.

=====

Avant d'aborder l'étude de ce cycle plus récent examinons les travaux antérieurs sur le processus de régénération du pourpre, qui nous le feront mieux comprendre.

Dans ses travaux originaux, Kühne (1877) avait supposé qu'il existait dans l'épithélium pigmentaire une substance qui permettait la régénération du pourpre dans la rétine et même en dehors de celle-ci. Chase et Smith (1939) ont démontré qu'on pouvait régénérer le pourpre en solution à l'obscurité, si son p H est voisin de 6 à 7; mais la régénération ne se maintient pas après des éclairages succédés, comme si la substance qui favorise la régénération s'était usée. D'après Granit (1936) cette substance serait de l'orangé transitoire, dérivé du pourpre après action de la lumière et qui à l'obscurité redonnerait le pourpre.

La régénération du pourpre a été bien étudiée par Zemi (1938 - 1940). Cet auteur a mesuré la densité optique des extraits de pourpre au cours des différents temps de la régénération. Cette étude lui a permis de montrer l'existence de deux processus distincts et simultanés :

Le premier est un processus de décomposition rapide du pourpre par la lumière dans les bâtonnets, avec formation de l'"orangé transitoire" ayant emmagasiné l'énergie lumineuse.

Le deuxième processus plus lent, s'opère sans doute au niveau de l'épithélium pigmentaire, qui apporte l'énergie sous la forme de produits enzymatiques. L'intervention de la vitamine A serait plus importante dans le deuxième processus, car la consommation de la rétine en oxygène déjà très grande normalement (6,5 cc par gramme de tissu en une minute) s'élève de plus de 10 % lorsque la rétine se trouve à l'obscurité. De même la consommation des glucides s'élève notablement, et dépasse de quatre fois la consommation des tissus cérébraux.

Les substances nécessaires sont apportées par la voie sanguine, très développée dans la région oculaire. Cette vascularisation de la rétine est indispensable au fonctionnement des bâtonnets et des cônes. Si on comprime expérimentalement le globe oculaire ou l'artère centrale, on a une cécité passagère. Lors d'une oblitération de cette artère la cécité est définitive. On connaît également la cécité momentanée des pilotes de chasse, lors des virages ou des évolutions rapides qui influent sur la circulation oculaire.

Zemi a étudié la dualité du mécanisme de la régénération chez la Grenouille. Il a pu constater que le deuxième processus varie avec la température, il s'accélère avec la pilocarpine et se ralentit avec l'atropine; tandis que le premier qui part de

l'orangé transitoire déjà existant dans les bâtonnets n'est pas touché par ces facteurs. Cette indépendance du premier processus vient de ce qu'il n'est pas lié avec la circulation, et c'est lui qui subsiste seul dans les yeux énucléés.

Dans l'étude du seuil absolu, ce double mécanisme de la régénération du pourpre est aussi mis en évidence par la nécessité d'une préadaptation lumineuse pour former l'"orangé transitoire", et c'est cette formation, qui accélère la reconstitution du pourpre.

Ce fait a été vérifié par Bauer (1911) : la reconstitution se fait plus vite dans une rétine maintenue à une faible lumière si elle a été précédée d'une forte préadaptation lumineuse ; tandis qu'elle se ferait moins bien dans une rétine même maintenue à l'obscurité, si elle est précédée seulement d'une adaptation moyenne ou faible. De faibles éclairs lumineux peuvent accélérer le processus de régénération, on l'observe au niveau de la rétine et dans les solutions de pourpre. Tant qu'il existe encore de l'orangé visuel la régénération se continue.

Ces mêmes phénomènes ont été aussi confirmés par Chase et Smith (1938) un éclaircissement modéré agit favorablement sur la régénération surtout dans les faibles longueurs d'onde, comme si les substances dégradées (jaune à orangé) et prééxistantes dans la solution, ou formées lors de cet éclaircissement, possédaient une action accélératrice.

Dans nos expériences et localisations histochimiques à l'aide des fluorones nous avons vu :

1°/ Dans la rétine de Grenouille remise dans une obscurité relative, que la pourpre rétinien est bien coloré en rose orangé dans le segment externe des bâtonnets, surtout dans les régions protégées par les franges pigmentaires, tandis que les parties plus exposées sont légèrement décolorées. Nos résultats montrent, dans les rétines des animaux qui ont été remis à l'obscurité, que la régénération peut se faire rapidement, selon le premier processus, à partir des substances dégradées et préformées (qu'elles soient liées ou faiblement mises en liberté).

2°/ Dans les rétines des animaux bien exposées à la lumière avec une dégradation plus poussée du pourpre, et des dérivés déjà dégradés (que nous pensons être de l'orangé transitoire en suivant les travaux de Kühne, Lythgoe et de Segal) le processus de régénération est bien plus long, et il fallait attendre plus de 6 à 12 heures selon les animaux, ce temps beaucoup plus long semble

montrer la nécessité des apports extérieurs à la rétine pour une synthèse plus complète.

Ces expériences, sous contrôle histochimique, nous ont montré que ce double aspect dans la resynthèse du pourpre au niveau des bâtonnets et de certains pigments des cônes peut exister. Les nucléotides à ribose doivent intervenir dans les deux processus de Zervi.

Dans le premier processus les dérivés nucléotidiques sont plus colorés, ce qui indique, soit qu'ils sont plus riches, soit qu'ils n'ont pas été trop dégradés par l'excitation lumineuse.

Dans le deuxième processus les nucléotides sont moins fortement colorés. Ils seraient alors, soit moins condensés, soit moins riches. Sous l'action de la lumière, et particulièrement chez les animaux fortement éclairés, le cycle principal dans une rétine fonctionnelle serait le deuxième processus, sur lequel se grefferait le premier, plus aisé et plus rapide avec un matériel préformé.

Ce que nous pouvons affirmer, c'est que les nucléotides doivent être impliqués dans les deux processus. Au niveau des bâtonnets le processus rapide serait plus important qu'au niveau d'un certain nombre de cônes. La substance des cônes est moins sensible et posséderait probablement des substances voisines ou proches de l'"orangé transitoire". Au cours de nos observations, il nous a paru que la différence de régénération au niveau des batônnets et des cônes vient de ce que : dans l'un il y aurait les deux processus de régénération, et dans l'autre un des processus, le premier par exemple ne se ferait pas avec la même intensité. Cette différence de comportement observée traduirait-elle le degré de différenciation existant entre les cônes et les bâtonnets dans leur évolution ? Les bâtonnets moins primitifs selon les idées de l'ontogénèse, verraient leur différenciation s'élever pour la sensibilité lumineuse avec l'acquisition de produits nucléotidiques, soit plus condensés, soit en plus grande quantité. De par ce fait ils pourront travailler de concert et métaboliser une quantité plus grande de caroténoïdes qu'au niveau des cônes, démontrés moins sensibles à la lumière et moins influencés par le régime riche en vitamine A.

.- Conservation et vieillissement du pourpre.

Plus récemment encore, en 1955 C.M. Radding et G. Wald

ont repris les travaux antérieurs. Ils ont préparé plus soigneusement la rhodopsine en vue d'étudier l'effet du vieillissement et du pH. Ils avaient observé qu'au cours de l'exposition à la lumière de la rhodopsine à des pH au delà de 5,5 et 7, sa partie protéique (opsine) subissait une dénaturation.

Les auteurs préparaient la rhodopsine de la façon suivante : Les parcelles de bâtonnets de rétine de bétail sont séparées du tissu rétinien, durci à l'alun, par centrifugation différentielle. Après lyophilisation, le pourpre est extrait à l'éther de pétrole, sous forme de poudre sèche. La teneur en rhodopsine est plus grande si l'extraction est faite avec de petites fractions successives d'une solution aqueuse à 2 % de digitonine. Les solutions de rhodopsine peuvent alors être conservées à 3° C pendant six mois sans changement appréciable de son spectre d'absorption (500 m u, bande λ (fig I). L'utilisation de l'alun pour durcir et fixer la rhodopsine, ou son omission, ne paraît apporter aucune différence, bien que son omission double la quantité d'impuretés, en particulier des protéines, qui présentent un maximum d'absorption à 278 m u. Il en est de même avec la digitonine qui, lors d'une dialyse de purification, ôte également des impuretés, ce qui donne un décalage du pH, qui passe de 6,2 - 7,0 à 5,2 - 5,7. L'addition d'un agent chélateur (acide éthylène-diaminotétra-acétique E.D.T.A., le glutathion, calcium, magnésium, chlorure, sérum albumine) à la solution ainsi préparée n'a pas amélioré sa régénérabilité au cours du stockage. Les préparations de rhodopsine obtenues avec cette méthode présentent d'ailleurs entre elles des capacités de régénération initiale très variables.

Les critères de stabilité et de conservation de la rhodopsine sont basés :

1°/ sur le spectre d'absorption maintenu (extinction maximale de la rhodopsine à 500 m u).

2°/ Conservation de sa capacité de régénération après exposition lumineuse.

Les auteurs ont montré que cette rhodopsine à 3° C et à pH voisin de la neutralité présente une bande λ (500 m u) inchangée, dans le spectre visible, pendant six mois, avec un pouvoir de régénération qui décroît rapidement et à des vitesses variables selon les différentes préparations. La dénaturation de la partie protéique (opsine) empêche la régénération. Cette dénaturation doit se produire ailleurs que dans la liaison rétinène-protéine dont le spectre d'absorption reste intact.

Le comportement du spectre d'absorption vis à vis du p H et de la température montre que la rhodopsine du bétail dans les zones de 3,9 à 9,6 entre 25° et 27° reste normale, pendant une heure au moins. Au delà de ce temps le pigment pâlit et l'extinction chute à 50 % en une heure dans les p H 3,3 et 10,5. L'exposition à la lumière augmente fortement la vulnérabilité de la fraction protéique de l'opsine aux acides et bases, et lui fait perdre sa capacité de régénérer le pourpre, surtout en dehors des limites normales de p H. Avec la lumière la chute de 50 % est accélérée, elle est de 45 Sec. à p H. 3,4 à 9,1. Elle est plus atténuée à p H 5 et 8 (une heure).

La dégradation de l'opsine est liée à ses propriétés de matière vivante et les auteurs proposent de l'appeler "biopsine".

Ces travaux biochimiques de Wald et collaborateurs doivent refléter que les propriétés de la rhodopsine isolée et principalement le processus de régénération in "vitro" si on les considère à la lumière des travaux de Zewi. Ce dernier observe dans la rétine vivante un double mécanisme :

1°/ Un processus rapide, qui régénère le pourpre initial décomposé par la lumière en orangé transitoire, et dérivés dégradés.

2°/ Un processus plus lent, qui se fait dans le milieu environnant en dehors des bâtonnets, ou à leur niveau, grâce à l'apport d'éléments indispensables, (sucre, oxygène, caroténoïde, enzymes, lipides, protides, etc.). Ce processus lent s'opère dans la rétine par l'intermédiaire de la vascularisation très développée de l'oeil.

Le processus rapide de régénération est moins sensible à la température et aux actions chimiques, (pilocarpine, atropine) que le processus lent, parce qu'il n'est pas lié à la circulation, il peut alors subsister, et fonctionner encore dans les yeux énucléés.

Il est vraisemblable que dans leur premières études sur des solutions de rhodopsine de rétines isolées de bétail et par conséquent coupées de la circulation les auteurs (Wald et Coll) n'ont que le premier processus de régénération. L'effet photochimique dénaturant ne s'est manifesté que sur le stock de pourpre initial et sur les dérivés impressionnés ; la régénération étudiée sera donc limitée seulement au premier processus, même avec des conditions de p H favorables, voisines de la neutralité.

En effet l'absorption du pourpre est restée normale pendant un certain temps, mais elle chute par la suite, et le pouvoir de régénération diminue. L'opsine frappée par la lumière est devenue vulnérable, et s'altère. Si on ne la renouvelle pas, la régénération se fait de moins en moins. Le pâlissement des pigments "in vitro", et la chute de l'extinction observés par ces auteurs doivent correspondre à une modification des pigments sensibilisés ou légèrement dégradés comme l'"orangé transitoire" (signalé par Zewi, Chase et Smith). Ce dernier peut redonner alors le pourpre de façon reversible, mais ne peut le faire indéfiniment. On comprend alors que l'addition des divers agents essayés par Radding et Wald ne puisse arrêter l'évolution et la perte de la capacité de régénération. L'énergie lumineuse emmagasinée

dans les produits impressionnés comme "l'orangé transitoire", doit continuer son action sur la protéine vivante. Cette action dénaturante de la lumière, selon Wald et Bronn (1951 - 1955) est comparable à l'action des agents de dénaturation franche comme le chauffage, les acides, les alcalis, les solvants organiques polaires et les ions métalliques lourds. Radding et Wald (1955) ont pensé que cette dénaturation par la lumière clive partiellement ou complètement les groupements prosthétiques de la rhodopsine, et expose les nouvelles liaisons à de nouvelles conditions où elles ne sont plus protégées. Il est "clair" pour ces auteurs que la liaison du groupement prosthétique à l'opsine exerce un effet protecteur.

Nous nous excusons d'exposer les faits relatés par Radding et Wald avec beaucoup de détails, car ils serviront à étayer nos techniques de détection histochimique plus récentes. Ces faits reflètent surtout les conditions d'obtention et les expériences en dehors de la circulation sanguine. Il est clair pour nous d'après les travaux de Zervi que la régénération du pourpre dans ces expériences soit limitée.

Les auteurs l'ont bien compris, et, depuis, Wald et ses collaborateurs ont essayé par de nouveaux travaux d'apporter d'autres résultats faisant jouer un rôle aux substances venant du milieu extérieur et où interviennent les nucléotides à ribose.

.- Cycle du pourpre.-

L'étude nouvelle de ces auteurs, leur a permis de retracer un cycle de synthèse et de dégradation du pourpre plus conforme avec la vie et la réalité, qu'Zewi (1938-1930), Chase et Smith (1939) ont fait entrevoir, ainsi que nos observations (1951-1955).

D'après ces auteurs le cycle de la rhodopsine (λ max. 500 m μ $\pm$ 2 m μ) serait le suivant :

La rhodopsine est convertie par la lumière en lumierrhodopsine, produit analogue à l'"orangé transitoire". A une température supérieur à -20° , et en milieu légèrement alcalin celle-ci va donner la métarrhodopsine. (Remarquons en passant que cette nouvelle étude fait intervenir la sensibilité du produit à la température, signalée dans le deuxième processus lent de Zewi et où la synthèse est reliée à la circulation et aux enzymes). Cette métarrhodopsine va donner, en présence d'un excès d'eau, un mélange de caroténoïde jaune le rétinène (aldéhyde de la vitamine A) et une protéine incolore (scotopsine).

La rétinène dans la rétine vivante ou en solution mais avec l'apport d'enzymes vivantes : (alcool-déhydrogénase) et sa coenzyme (la phosphodinucléotide réduite, D.P.N.H., ou cozymase) est réduit en vitamine A. Cette réduction enzymatique a été réalisée "in vitro" par Wald et ses collaborateurs. (1956).

Ce fait confirme bien que, le deuxième processus de formation de vitamine A, peut se faire en dehors de cellules visuelles mais avec le concours des nucléotides à ribose indispensables pour cette synthèse. Wald confirme donc bien l'existence des dérivés nucléotidiques à ribose que nous avons signalé dans nos publications de 1951-1955. (Nous précisons bien que les techniques des fluorones ne détectent ni la vitamine A, ni les protéines, à moins qu'elles ne renferment par liaison ou adsorption sur leur molécule, les enzymes nucléotidiques).

Au début de nos recherches, lorsque nous avons trouvé les nucléotides à ribose, la bibliographie et les connaissances classiques montraient que le pourpre rétinien se dégradait en donnant un groupement caroténoïdique, qui redonnait la vitamine A. En se limitant à un tel processus on ne pouvait concevoir les différents degrés de dégradation et de synthèse du pourpre rétinien, ni justifier la présence des nucléotides signalés, ni expliquer leur rôle dans la vision. Malgré ces connaissances classiques, déjà en 1951, 1952, 1953, nous avons écrit que nous pensions que les nucléotides à ribose détectés par nos méthodes histochimiques et démontrés dans nos expériences comme photosensibles pouvaient entrer, soit dans la composition, soit dans le cycle d'élaboration du pourpre.

Pour prouver ce que nous avons avancé, malgré les opinions classiques, nous avons recherché ces substances à l'aide toujours de nos réactions, dans les rétines des animaux les plus divers.

Nous avons signalé alors, leur présence du niveau des cellules visuelles de l'Homme, des Lapins, Rats, Souris, Batraciens, Poissons et des Invertébrés. Chez les Crustacés comme la Crevette et l'Ecrevisse cette réaction est positive au niveau des ommatidies (cellules à rhabdômes).

La répartition des nucléotides est donc assez générale dans tout le règne animal, la localisation la plus démonstrative se trouve chez la Grenouille.

Ces substances, au cours de nos réactions, donnaient les critères des nucléotides.

1°/ Elles sont solubles dans les sels biliaires comme l'avaient observé : Kühne, Ewald, Sewall, Ayres (1880) pour le pourpre rétinien. On sait d'ailleurs d'après Sugita (1926) que l'ingestion du cholate par des Rats provoque une héméralopie passagère. Plus généralement dans les maladies à rétention biliaire, on observe également des troubles de la vision.

2°/ Ces substances sensibles à l'action lumineuse se reformeraient dans les tissus en milieu aérobie (P. Thomas) 1936.

3°/ Elles résistent à l'action de la ribonucléase, qui ne les clive pas spécifiquement, et ne sont pas colorées par le vert de méthylepyronine, comme nous l'avons constaté, et ce qui est confirmé par Brachet et Shaver. (1941) Les nucléotides ne sont pas colorés par leurs méthodes des acides ribonucléiques.

4°/ Ces substances sont précipitables par les sels de baryum, de mercure, d'urane, de plomb dans certaines conditions.

5°/ Elles sont solubles dans des solvants acides: acide trichloracétique à 10 %, alcool étendu, et dans l'eau bouillante.

6°/ Elles donnent la réaction du ribose au cours de nos réactions des fluorones.

Rappelons que leur existence a été signalée par des biochimistes qui notent au niveau de l'oeil, des nucléotides adényliques sensibles à la lumière et se détruisant en tube à essai avec formation d'ammoniaque consécutive. Cette formation doit être biologique, car on sait que les réactifs, acides, ou bases, détruisent le pourpre et ses dérivés, à l'exception de l'ammoniaque étendu, l'eau oxygénée et du chlorure de sodium.

Les travaux biochimiques d'Euler (1940 -1947) et ses collaborateurs, ont montré dans la rétine de nombreux Poissons des quantités appréciables de nucléotides à ribose sous la forme de riboflavines ou lacto-flavines.

Ces nucléotides à ribose par la suite ont été mieux étudiés, ils sont sensibles à la lumière qui les transforme en lumiflavines inactives. Cette réaction à la lumière est réversible et se ferait par réduction. (Il est curieux de voir le comportement de ces riboflavines vis-à-vis des pigments visuels et des nucléotides de la cozymase). Des auteurs signalent qu'à l'état naturel, elles sont dispersées sur des supports protéiques, et peuvent agir comme ferment d'oxydation. Elles sont apparentées au ferment de Warburg et à la vitamine B2 retrouvée dans la rétine, où elles participent plus ou moins aux phénomènes de la vision en favorisant l'oxydation de substances apportées par le sang. Pour quelques auteurs ces riboflavines joueraient un rôle dans la vision : elles favorisent en effet la vue dans la semi-obscurité en transformant les rayons bleus à longueurs d'onde courte en lumière fluorescente jaune-vert. C'est ce qui explique pourquoi la lumière bleue utilisée pour augmenter le pouvoir séparateur du microscope, amélioré en plus la netteté de la préparation observée.

Au cours de l'expérience de Segal, sur la rétine étalée de Grenouille, montrant que la substance jaune orangé est sensible à la lumière bleu, on peut se demander si la sensibilité observée ne serait pas partiellement en rapport avec des dérivés de cette nature, greffés sur le support protéique de la rétine pour un autre rôle.

On sait d'autre part que les riboflavines participent au processus d'oxydation tissulaire, et prennent part au métabolisme plus général des glucides, lipides et protides dans de très nombreux organes autres que la rétine. Dans cette dernière le métabolisme est très intense, et elle consomme beaucoup d'oxygène (6,5 CC par gramme de tissu en une minute). La consommation augmente de 10 % quand la rétine s'adapte à l'obscurité. D'après ces déterminations on conçoit le rôle possible des nucléotides de cette nature au niveau des cellules visuelles dans la phase reconstructive. Les riboflavines contribueraient à l'élaboration des substances photochimiques.

La consommation des sucres dans la rétine est également importante, quatre fois plus grande que dans le tissu cérébral. Ces résultats expliquent le rôle de ces substances et aussi la présence des polysaccharides Mac Manus positif que nous avons trouvés au niveau des cellules visuelles et démontrés sensibles à l'action de la lumière. Ces dérivés polysaccharidiques diminuent très fortement et ne sont plus retrouvés dans la rétine éclairée.

D'autres dérivés à ribose comme les p. acidaminodihydrases formés par l'union de protéine et de lactoflavine-adénine-dinucléotide ou F. A. D. peuvent jouer un rôle dans les tissus. A l'état réduit ces dérivés sont oxydables par le cytochrome et jouent le rôle de transporteur d'électrons. Sous cette forme ces dérivés à ribose existeraient en faible quantité, du fait de l'existence dans

la rétine de dérivés analogues comme : l'alcool déshydrogénase, ferment couplé avec la cozymase ou diphosphonucléotide D. P. N. H.,

C'est cette cozymase qui est en rapport direct avec les caroténoïdes du pourpre rétinien. Elle intervient dans le couple de la rétinène-réductase pour réduire le rétinène en vitamine A, et ensuite en néorétinène b avec l'aide des isomérases. C'est ce phénomène chimique qui a été appliqué par Wald pour réaliser "in vitro" la synthèse du pourpre rétinien.

Synthèse de la Vitamine A et du pourpre.

Wald et ses collaborateurs (1955) pour faire in vitro la synthèse du pourpre ont procédé par étapes.

Ils ont d'abord opéré la réduction du rétinène en vitamine A, sous contrôle du spectre d'absorption. Du rétinène synthétique a été ajouté à un mélange expérimental de coenzyme réduite D. P. N. H. de la Levure et de l'apoenzyme de la rétine de Grenouille. Le tout a été incubé dans une solution aqueuse de digitonine à 2 % à pH 6 - 8,1 avec une solution de contrôle constituée par un mélange identique où l'enzyme est détruite par ébullition. Après deux heures, les solutions incubées sont extraites à l'hexane. Les courbes d'absorption spectrales de ces extraits, montrent que la solution témoin contient du rétinène non altéré (λ_{max} . environ 385 m μ) et que, dans la solution expérimentale le rétinène a été réduit en vitamine A (λ_{max} . environ 320 m μ). (voir fig. 2)

En suivant les mêmes principes dans la deuxième étape, Wald avec Hubbard (1955) ont pu faire la synthèse proprement dite de la rhodopsine à partir d'un mélange de quatre substances synthétiques en solution. La vitamine A1 (extraite de l'huile de foie de Poisson) la scotopsine - de la rétine de Grenouille -, la coenzyme (de Levure ou de jaune d'oeuf), l'alcool déshydrogénase cristallisée (foie de Cheval). Ce mélange a été placé à l'obscurité pour l'incubation avec un témoin. Les courbes d'absorption des extraits montrent que la rhodopsine est synthétisée. Transportée à la lumière elle pâlit, retransportée à l'obscurité elle synthétise une plus grande quantité de rhodopsine. La mixture de ces quatre substances réalise toutes les réactions du système de la rhodopsine (voir fig. 3)

Toutes les vitamines A ne conviennent pas à cause de leur structure isomérique (cis) ou (trans) et les isomères sont très nombreux. Seule la vitamine A naturelle de l'huile de foie de Poisson convient, parce qu'elle contient un isomère - cis - actif qui permet la synthèse.

Les enzymes, alcool-déhydrogénase et cozymase sont relativement indifférentes à la structure isomérique du rétinène ou de la vitamine A. Le point critique de la réaction dans la synthèse de la rhodopsine est la condensation du rétinène avec la scotopsine. Cette condensation exige pour se faire la configuration cis. De nombreux isomères cis et trans ont été étudiés.

C'est grâce aux travaux de Morton et ses collaborateurs (1956) du Laboratoire de Biologie de l'Université de Harvard, et des Laboratoires de Recherches Organiques des Industries de Produits de distillation de Rochester, que les expériences sur les 5 isomères cis-trans obtenus à l'état cristallisé ont été réalisées. Seul le néorétinène b (cis) a donné une rhodopsine identique à celle de la rétine adaptée à l'obscurité. L'isorétinène (a) a donné un pigment lumino-sensible semblable à la rhodopsine. Les autres isomères sont inactifs.

11) Travaux sur la Porphyropsine.

La porphyropsine est semblable à la rhodopsine c'est un pigment sensible à la lumière, on le trouve au niveau du bâtonnet des Poissons d'eau douce, il est caractérisé par un λ max. = 522 μ on a pu en faire la synthèse.

Synthèse de la porphyropsine.

Des recherches analogues ont été faites par Wald, Brown et Smith (1939 - 1955) avec la vitamine A 2 des rétines de Poisson d'eau douce. Elles contiennent du violet pourpre ou porphyropsine différant de la rhodopsine par le caroténoïde. C'est surtout l'isomère all-trans rétinène 2, inactif pour la synthèse expérimentale de la porphyropsine qui se forme lors de la décoloration.

Cette synthèse a été réalisée avec des isomères cis (1) et cis (2) du rétinène 2. L'isomère cis (1) conduit à la porphyropsine avec l'opsine des Poissons d'eau douce (λ max. 523 μ). L'isomère cis (2) conduit dans les mêmes conditions à l'isoporphyrpsine (λ max. 507 μ). L'opsine de la Grenouille ou des Poissons d'eau douce a donné les mêmes résultats et les mêmes longueurs d'onde. L'opsine du bétail fait décaler le maximum de la porphyropsine et de l'isoporphyrpsine vers les longueurs d'onde plus courtes - λ max. = 517 et 501 μ). Les différentes opsines, d'après ces auteurs sont étroitement reliées aux pourpre et violet rétinéens. Elles seraient de la même famille et posséderaient des propriétés identiques qui différencient seulement ces deux pigments, pourpre et violet, c'est la structure des caroténoïdes.

La porphyropsine, sous l'action de la lumière conduit au all-trans rétinène (2) et à la scotopsine. Sous l'influence de

l'obscurité et du système enzymatique - alcool déhydrogénase et cozymase) il se forme de la vitamine A 2 (all-trans) voisine des vitamines synthétiques. Cette vitamine est ensuite isomérisée en vitamine A 2 (isomère cis 1) par des isomérases et retransformée en rétinène 2 actif (isomère cis du rétinène 2) par le couple enzymatique. Ce produit devenu actif en présence de la scotopsine redonne à l'obscurité la porphyropsine.

A côté de ce processus principal le all-trans rétinène 2 formé par action de la lumière peut être directement converti par une deuxième réaction photochimique dans la rétine en isomère cis (1) rétinène 2 et peut rentrer alors dans le cycle de la porphyropsine par recombinaison avec la scotopsine.

Les études de Wald et ses collaborateurs montrent que les deux sortes de pigments des bâtonnets sont synthétisés à partir des opsines, avec les isomères appropriés de rétinène (1) et rétinène (2) et par l'intermédiaire du système enzymatique comportant le diphosphonucléotide. Cette synthèse "in vitro" et "in vivo" régénère les pigments.

En plus des isomères spécifiques, des isomères iso (a), précurseurs de l'isorhodopsine, ont été retrouvés dans les huiles de foie et dans le sang. Ils semblent jouer plutôt un rôle tissulaire, bien qu'ils puissent secondairement contribuer à la vision.

Soul le néorétinène b (cis) est localisé dans la rétine de façon spécifique et il n'a pas été retrouvé ailleurs (sa formation exigerait peut être des conditions spéciales).

III/ Présence et rôle des lipides et des glucides.

Les études récentes de Wald (1956) laissent une place évidente aux caroténoides jouant un rôle important dans la vision nocturne.

Elles laissent aussi une place aux protides. c'est-à-dire à l'opsine, en particulier à la scotopsine. Ces substances peu altérées par la lumière peuvent cependant à la longue perdre leur pouvoir de s'unir aux caroténoides.

Cependant, par vieillissement la dégradation de la rhodopsine n'affecte pas la chaîne du rétinène-protéine le spectre d'absorption n'étant pas influencé.

On peut se demander si les acides ribonucléiques (observés dans le segment interne des cellules visuelles et diffusant vers le segment externe) que l'on sait jouer un rôle dans la synthèse des protéines n'auraient pas une relation avec l'élaboration de l'opsine.

Une place importante est aussi laissée aux nucléotides à ribose, détectés par nos méthodes. Ces études confirment leur existence et leur importance dans la synthèse du pourpre et des pigments rétinien.

Les lipides.

Dans ses études Wald a laissé de côté les lipides, de même que les phospholipides, trouvés par Krause en 1942. Pourtant les lipides sont présents dans la rétine, ils ont été étudiés par Francis (1955) dans un travail histochimique approfondi. En 1957 Karli a proposé une méthode nouvelle de coloration du pourpre par le bleu lumière après fixation au chlorure de platine. La technique proposée par Karli mettrait en évidence, la présence des caroténoprotéides du pourpre rétinien. Dans la discussion des résultats, Karli s'est demandé si le pourpre est bien révélé par cette méthode et il apporte des arguments :

1°) Localisation dans l'article externe des bâtonnets.

2°) Coloration positive au cours de l'histogénèse juste au moment de la différenciation de l'article externe (seul le pourpre est connu et localisé électivement à ce niveau).

3°) Coloration du segment externe des cônes.

Après des recherches histochimiques sommaires, il pense que la substance détectée serait de nature lipidoprotidique sensible à la lumière, le segment externe des bâtonnets étant décoloré après exposition lumineuse avec une diffusion des produits de photolyse dans le milieu ambiant.

Cette méthode proposée comme coloration signalétique, demandait pour acquérir les caractères d'une réaction histochimiques précise des recherches complémentaires. Nous avons esquissé alors en 1957 un début de recherches pour utiliser comparativement cette technique et la nôtre en vue d'une étude sur la physiologie de la rétine. Au cours d'un stage en 1957, chez le Professeur Verne à Paris nous avons rencontré Vilter, qui, après la publication de Karli, a essayé d'analyser cette coloration et de préciser la nature de cette substance colorée par le bleu lumière. Il l'a dénommée par la suite "substance Karli positive" et étudiée avec la méthode de détection des lipides "liés". Vilter insiste sur l'inutilité du chlorure de platine pour la mise en évidence de la substance Karli positive. Le platine n'est pas en cause car sa détection histochimique dans les rétines éclairées et obscurées ne montre pas de variation, ni de différence de localisation. La substance Karli positive colorée par le bleu lumière serait plutôt le reliquat d'une coloration

plus intense d'éléments autres que le pourpre, et qui sont enlevés par le différenciateur alcool-dioxane trop violent. Des différenciateurs plus lents, des fixateurs plus favorables et des colorants de lipides ont conduit Vilter à admettre que le substratum des cellules visuelles est constitué par un complexe lipoprotidique, et peut-être glyco-lipoprotidique.

Dans nos recherches sur les lipides de la rétine (1951) nous avons constaté qu'en pratiquant la coloration de Unna sur des coupes de rétines fixées au liquide de Helly, au formol, au liquide de Gendre, liquide de Carnoy, les segments externes des cellules visuelles se coloraient avec le vert de méthyle en violet. Lorsqu'on montait les préparations cette coloration pâlissait et se perdait, tandis que le sirop d'Apathy la conservait. Cette dissolution du complexe coloré dans les solvants organiques nous avait fait penser à la présence des lipides plus ou moins liés. Des colorations au Soudan III sur des coupes fixées au formol nous avaient confirmé cette nature. Il en est de même de la coloration de Smith-Dietrich sur les coupes fixées au bichromate.

Mais comme à cette période nous travaillions sur des rétines obscurées, et que les lipides nous paraissaient ne pas avoir un rôle dans la vision, nous n'en avons pas poussé plus loin l'étude. C'est seulement après les travaux de Karli (1957) que nous avons essayé de reprendre nos recherches anciennes. Par la suite Vilter nous a mis au courant de ses recherches et de son hypothèse de travail.

Le mécanisme de la coloration de Karli, d'après Vilter, serait dû à la présence des lipoprotéines qui captent les colorants liposolubles et alcoolosolubles selon un mode particulier. La solubilité des colorants comme le bleu lumière dans les lipides, s'expliquerait par l'abaissement du titre alcoolique, le colorant, d'après le coefficient de partage, passe alors dans les lipides. Cette coloration a lieu, non seulement avec le bleu lumière, mais encore avec le vert de méthyle impur, le violet de méthyle, le noir Soudan, les sels de pararosaniline, etc.

Se basant sur les résultats du microscope électronique et les travaux de Collins, Love, Morton et de Krause, Vilter considère que la substance du segment externe serait de nature lipoprotidique. Les lipides doivent jouer un rôle soit par leurs propriétés physiques, soit par leurs propriétés chimiques propres dans la dynamique biochimique de la perception. Wald au contraire, admet que le principe de photosensibilité puisse s'effectuer en l'absence des lipides. La différence vient de ce qu'il a travaillé surtout in vitro condition différente de celle des cytologistes. Les deux aspects ne seraient pas contradictoires.

Les conclusions de Vilter sont conformes en grande partie, aux nôtres : les lipides existent bien, et ont été étudiés dans nos recherches parallèles avec le bleu lumière, ainsi qu'avec les autres colorants des lipides. Nous les avons trouvés sensibles à la lumière. Ils doivent correspondre :

1°) aux "acides gras" que Walls (1942) place dans le groupement chromophore de la molécule de la rhodopsine,

2°) aux phospholipides de Krause, ce dernier les fait relier à parties égales avec le support protéique,

3°) aux lipoprotéines de Karli

4°) et aux lipides liés de Vilter.

Ces lipides au cours de nos expériences d'éclairement, ont montré des comportements assez identiques au niveau des cônes et des bâtonnets avec la lumière blanche. Leur réponse nous a suggéré qu'ils pourraient être des constituants d'un complexe pré-pigmentaire sensible à la lumière. La rupture de liaison physique ou chimique labile du complexe (destiné à dissoudre, capter ou fixer les fractions de la rhodopsine contenant des caroténoides, sur le substratum aussi bien des bâtonnets que des cônes, avec les différences que comporte leur métabolisme respectif) libèrerait la rhodopsine et le pigment des cônes. Les pigments nouvellement libérés par clivage d'un produit de stockage plus combiné seraient plus photosensibles.

Un autre argument, en faveur d'une liaison rhodopsine-lipide vient du fait même de l'extraction de la rhodopsine. Pour extraire la rhodopsine, Kühne faisait macérer les cellules visuelles dans des sels biliaires, qui gonflent les segments externes des bâtonnets et libèrent le pourpre sous l'effet détersif et émulsionnant bien connu de ces sels.

A côté des sels biliaires d'autres substances de faible tensio-activité (la digitonine, la saponine, l'oléate de soude etc.) libèrent et dissolvent le pourpre rétinien par un processus à peu près identique. Notre explication de l'existence des lipides et de leur rôle probable, a l'avantage de mettre en accord l'opinion de Walls selon laquelle la rhodopsine intervient secondairement, et les travaux de Wald et ses collaborateurs montrant l'importance du cycle photochimique de la rhodopsine pour la vision en dehors des lipides, et enfin elle fait la part des lipides vus par Krause, Francis, Karli, Vilter et nous-même.

Les Glucides. -

A côté des lipides de la rétine, il existe au niveau des cellules visuelles des glucides actifs détectables sous la forme de

polysaccharides. Ces glucides déjà entrevus par l'existence dans la rétine des enzymes qui interviennent dans leur métabolisme, ont été observés par nous, (1950 - 1955) avec la réaction des glucides par les fluorones, ainsi qu'avec le Mac Manus. Cette positivité et sensibilité ont été confirmées par Vilter (1957), qui signale une réaction P. A. S. positive au niveau des cellules visuelles.

Dans nos recherches sur la rétine et le segment externe des bâtonnets, les polysaccharides et les glucides se sont montrés sensibles à l'action de la lumière. Ils le sont aussi au niveau des cônes mais de façon moins nette. La présence des glucides actifs doit être liée à l'apport énergétique dans la réaction photochimique, mais cette dernière selon le schéma de Wald, peut s'effectuer en dehors des glucides. Il serait intéressant d'analyser leur rôle dans le temps.

En résumé on constate au niveau des cellules visuelles l'existence de plusieurs fractions de substances visuelles rangées en deux groupes principaux.

1°) les fractions protéique, caroténoïdique et nucléotidique qui sont liées plus directement dans le processus photochimique classiquement établi par Wald.

2°) Les fractions lipidiques liées à la rhodopsine, et les fractions glucidiques. Ces deux groupements plus ou moins reliés à la partie protidique de la rhodopsine, sous une forme de stockage ou de protection, seraient lâchés beaucoup plus tôt sous l'action primaire de la lumière blanche pour libérer le pourpre rétinien et lui rendre sa fonction photochimique essentielle.

Ce phénomène existerait au niveau des bâtonnets, et vraisemblablement au niveau des cônes, mais pour ces derniers le phénomène exigerait une brillance assez élevée en fonction de leur différence de sensibilité, et aussi du fait que les fractions protéiques, photopsine et scotopsine, sont différentes ; les liaisons lipidiques et glucidiques sont peut-être plus stables avec la photopsine.

B - Pigments des cônes : Iodopsine et Cyanopsine.

L'origine et l'analogie anatomique et, dans une certaine mesure, fonctionnelle des cônes et des bâtonnets, conduisent à penser que les cônes contiendraient un ou plusieurs pigments sensibles à la lumière à des niveaux élevés.

Les pigments des cônes n'étant pas aussi colorés, leur étude a été plus difficile, aussi n'avaient-ils pas encore été

nettement mis en évidence. Pour les uns, il y aurait plusieurs substances absorbantes dans des longueurs d'onde différentes, pour d'autres il y aurait une substance analogue à la rhodopsine, et différant de celle-ci par sa fraction protéique. Tout comme pour la rhodopsine, la vitamine A1 ou A2 donnerait deux variétés de pigments. Le premier a été isolé de la rétine du Poulet par Wald et a été appelé iodopsine (A1) l'autre aurait été obtenu par synthèse et appelé cyanopsine, son existence chez les animaux n'a pas été encore mise en évidence.

HISTORIQUE -

La vision au niveau des cônes - leurs pigments.

Walls rapporte que Max Schultze en 1886, fit part de la conclusion où il était arrivé après quinze années de recherches d'histologie comparée : sur les rétines de divers animaux il a observé une corrélation entre le nombre relatif des bâtonnets et des cônes et les habitudes des animaux vis-à-vis de la lumière. Les Vertébrés nocturnes avaient beaucoup de bâtonnets et peu ou pas du tout de cônes. Les espèces diurnes avaient beaucoup de cônes et pouvaient manquer complètement de bâtonnets. Schultze suggéra que le cône est le récepteur pour la vision photopique (lumière brillante) et que le bâtonnet est celui de la vision scotopique (lumière faible). Il a ajouté l'hypothèse corollaire que seul le cône est responsable de la vision colorée, car en lumière faible les couleurs ne sont plus discernables. C'est seulement vers la fin du XIXe siècle que Parinaud (1895) étudia la vision humaine dans certaines conditions pathologiques, et fit connaître la théorie des deux rétines. Puis Von Kries (1896) étendant les observations de Schultze formula la théorie de la dualité.

Par la suite de nombreux travaux de zoologistes ont conduit à asseoir cette théorie sur des bases plus sûres avec des faits prouvés.

La théorie de la dualité, est formée en réalité de deux théories. Les bâtonnets sont responsables des perceptions lumineuses achromatiques des lumières faibles. Les cônes perçoivent les images plus fines, plus vives avec leur forme et également les sensations chromatiques caractéristiques de la lumière vive.

En réalité, dans cette théorie, les facteurs qui font la netteté ou le flou de la vision par les éléments sensoriels, compte tenu de l'intensité des lumières, ne sont pas les mêmes que ceux qui font que les bâtonnets sont achromatiques et que les cônes donneraient le sens de la couleur. Les premiers facteurs sont assez facilement contrôlables contrairement à ceux qui donnent aux cônes la vision des couleurs. Cette difficulté est due, selon nous, à

l'existence de faits complexes que traduisent en gros ces deux théories opposées, ainsi que de causes diverses.

La théorie de Young et Helmholtz suppose l'existence de trois types de récepteurs, avec trois substances actives ayant chacune une sensibilité propre, se manifestant par des absorptions différentes.

Elle a orienté beaucoup de chercheurs dans l'étude de la vision chromatique et les résultats et les faits souvent contradictoires, ont entraîné une assez grande confusion.

D'un autre côté Hecht, dans sa théorie photochimique, suppose la présence d'une substance S photosensible qui, sous l'action de la lumière, donnerait naissance à divers produits sensibles : P I, P2, P3 et régénérables à l'obscurité. Ceux-ci subissent une transformation irréversible dans une réaction secondaire chimique en présence d'un produit existant dans la rétine, ce qui provoque le départ de l'influx. Dans une troisième phase, les produits par exemple PI ou P2 non utilisés vont, avec l'aide d'une substance supplémentaire apportée par la circulation, contribuer à la reconstitution de la substance S initiale.

Cette théorie, formulée en 1938 par Hecht après de très nombreuses recherches dans tous les domaines, avait été déjà entrevue en 1918 par Pütter, et en 1926 par Lasareff.

Les investigateurs anciens se sont heurtés à des difficultés dues à l'existence de théories opposées, en particulier celles concernant la vision des couleurs.

L'examen du sens chromatique est difficile, d'après Ovio, et exige une connaissance étendue de la fonction visuelle permettant d'éliminer les nombreuses confusions possibles entre la vision chromatique normale et les troubles de la vision chromatique comme :

- a) l'extension du spectre visible.
- b) le point de la plus grande clarté dans le spectre.
- c) les rapports de clarté entre une lumière à longues ondes et une lumière à ondes courtes.
- d) les rapports de clarté des lumières colorées avec leurs valeurs incolores.
- e) phénomène de Purkinje.

Sans entrer encore dans l'historique et l'étude des procédés d'examen du sens chromatique par les moyens les plus divers (observation des habitudes des animaux, études physiologiques, tests, réflexes conditionnés, mesure de la pupillo-contraction, méthodes d'optique physique, méthodes électriques, biologiques, chimiques et

enfin les méthodes cytochimiques plus directes) nous nous limiterons aux recherches physiologiques comparées, biologiques et chimiques sur la substance des cônes.

Nous nous réserverons d'examiner plus loin les méthodes indirectes les plus importantes, qui ont apporté les résultats les plus probants pour la connaissance de la physiologie de la rétine et de la vision des couleurs. On pourra ainsi les confronter avec les résultats histochimiques et histophysiologiques qui ont été l'objet de notre travail.

Les anciens auteurs utilisant les méthodes d'adaptation des animaux aux couleurs, ont pu, tout en expérimentant à travers l'échelle animale, deuvis les Vers jusqu'aux Vertébrés supérieurs déceler chez les Arthropodes, en particulier chez les Daphnies, Crustacés inférieurs, une sensibilité aux couleurs.

Avec les Crustacés supérieurs ils ont pu prouver une perception des couleurs. Chez les animaux étudiés, les auteurs avaient émis l'hypothèse que la perception était en relation avec l'acquisition d'une deuxième substance pour la vision des couleurs et d'un système nerveux adapté pour analyser ces sensations. Il faut noter que la première substance à laquelle les auteurs font allusion serait celle de la vision primitive de type protoplasmique sensible à la lumière, comme celle des plantes ou celle observée au niveau des cellules visuelles des espèces animales très inférieures. Ce premier document relatif aux substances chimiques se résume à l'hypothèse d'une substance sensible aux couleurs. La substance des cônes peu colorée fut moins étudiée que celle des bâtonnets. D'ailleurs sa concentration au niveau des cônes est plus faible.

C'est seulement en 1937 que Von Studnitz, étudiant la rétine de Tortue, a observé que la rétine à cônes après éclaircissement intense présente une variation d'absorption rétinienne avec baisse du produit absorbant. Par la suite il retira de la rétine une substance pigmentée très diluée, avec un maximum d'absorption vers 600 m μ . A partir de cette date des recherches commencèrent. Wald en 1937, a constaté que la lumière rouge de 650 m μ qui n'affecte pas le pourpre, produisait sur la rétine une variation semblable à celle observée par Studnitz avec un maximum vers 575 m μ . Chase (1939) a obtenu des résultats analogues.

En 1939, Birukow émit l'hypothèse que la substance des cônes n'est pas uniforme, vu les différentes couleurs perçues. En suivant la théorie de Young-Helmholtz il pense qu'il y aurait trois substances différentes.

Entre temps Hosoya (1938), et ses collaborateurs auraient

obtenu de la rétine de Tortue un pigment présentant trois maxima d'absorption dans le spectre. Cette dualité entre une substance polyvalente et trois substances se retrouvera souvent.

Von Studnitz reprit cette étude (1940 - 1944). Il trouva chez la Grenouille, le Cobra, la Poule, le Cobaye, et chez l'Homme trois substances pour la vision des cônes. Leur spectre présentait à peu près les mêmes maxima d'absorption. Von Studnitz crut alors pouvoir les identifier à trois substances sensibles au rouge, au jaune-vert, et au bleu de façon spécifique. Chez la Couleuvre, Tropidonotus natrix, par exemple, les maxima d'absorption se trouvaient à 655, 555, et 468 mμ et chez l'Homme à 665, 545 et 465 mμ. A la même époque, 1940, Hanström a extrait un pigment de la macula de Singe donnant un maximum d'absorption à 590 mμ.

Les résultats de Studnitz ne restèrent pas sans controverse de la part de Von Bliss, Granit et ses collaborateurs, et Autrum. Granit a utilisé la méthode électrophysiologique et n'a pas retrouvé des réponses dans le sens donné par Studnitz. Malgré l'affirmation et l'interprétation donnée par Granit, Trincker, en 1954, a pensé y trouver des résultats superposables à ceux de Studnitz ainsi qu'aux faits tirés de la théorie classique de Young-Helmholtz (1801 - 1852) selon laquelle on suppose la présence de trois composants.

Les points essentiels de la théorie de Granit (1941) sont basés sur l'existence des dominateurs et des modulateurs. Il existe deux dominateurs dans le mécanisme des récepteurs, avec chacun une courbe de sensibilité spectrale : l'une très sensible (scotopique) pour la vision crépusculaire, l'autre, moins sensible (photopique) pour la vision diurne. L'existence de ces dominateurs pour Trincker concorde assez avec la théorie dualiste, bien que Granit ne voit pas une séparation nette entre les cônes et les bâtonnets ; il est appuyé dans ce sens par M.L. Verrier. La courbe du dominateur de Granit doit résulter de l'addition des courbes de modulation. Les modulateurs relativement moins sensibles sont cependant représentés par leur courbe ou leur maximum dans des limites spectrales étroites (2 à 7 parmi des différentes variétés animales). Ils conduiraient à la possibilité de vision colorée, mais celle-ci peut ne pas se manifester. D'ailleurs d'après Granit même, le dominateur scotopique montrerait dans la vision achromatique trois modulations. Pour Trincker, il faut, en principe, au cours de ces études indirectes, suivre les deux critères suivants.

1°) - S'assurer du degré de développement de la vision colorée de l'espèce animale.

2°) - S'assurer du développement des analyseurs nouveaux spécifiques ayant une représentation centrale correspondante et bien fonctionnelle.

Beaucoup de travaux ont été effectués sur la vision des couleurs, en utilisant des méthodes électrophysiologiques avec des résultats tendant dans le sens de la théorie de Young-Helmholtz ou de Hecht et c'est seulement leur interprétation qui diffère.

Dans les techniques physiologiques, le matériel d'étude compte, les microélectrodes jouent également leur rôle. Les interprétations ont beaucoup évolué depuis les travaux de Granit (1941), comme le témoignent certains travaux de Svaetichin (1956), qui a étudié les réponses du cône L (light) et des cônes jumelés. Pour cet auteur, les cônes jumelés seraient responsables de la vision des couleurs, nous y reviendrons plus loin. Ce qu'on peut observer, c'est que dans les courbes électrophysiologiques, on trouve souvent dans les réponses des animaux, trois sortes de modulateurs, même dans les travaux de Granit. Cependant, chez la Grenouille, on en trouve quatre répartis dans le spectre. Le nombre des modulateurs peut être plus grand que trois.

Pour Hartridge (1947) il n'y aurait pas trois récepteurs comme dit la théorie de Young-Helmholtz, mais un polychromatisme. Il aurait trouvé sept types de récepteurs en utilisant les méthodes électriques. Les expériences de Hartridge (1948) montrent en plus des trois récepteurs sensibles aux trois couleurs fondamentales, l'existence d'un récepteur spécifique des rayons jaunes à l'aide de trois systèmes d'écrans jaunes.

D'autres travaux, particulièrement ceux de Motokawa, Ebe, Arakawa, Oikawa (1951) utilisent la technique de Motokawa basée sur l'action d'un stimulus lumineux monochromatique de 2 secondes qui précède un stimulus électrique à seuil déterminé. L'excitation colorée préliminaire a baissé le seuil du stimulus électrique et donné un gain de sensibilité qui varie avec l'intervalle séparant la fin du stimulus lumineux du début du stimulus électrique ; il se dessine alors un maximum bien marqué du gain de sensibilité ; c'est la place de ce maximum en fonction du temps qui diffère selon la couleur de la lumière : rouge 1 Sec., jaune 1,5 Sec., verte 2 Sec., bleu 3 Sec. L'intérêt de ces travaux est de montrer que l'oeil est sensible à quatre types de couleurs et répond dans un ordre déterminé croissant ou décroissant, mais allant dans le même sens, ce qui suppose une disposition assez particulière des éléments ou de leurs substances que nous examinerons plus loin.

Les travaux morphologiques et histologiques sur les cônes ont montré dans la rétine de divers animaux, plusieurs types de cônes simples ou complexes, avec des types intermédiaires entre cônes et bâtonnets.

M.L.Verrier, en 1948, a montré qu'il n'y avait pas une différence très nette entre les cônes et les bâtonnets, qu'il

existait des types intermédiaires. Cependant elle signale un polymorphisme des cônes chez les oiseaux et les Reptiles, et à ce sujet elle rapporte une hypothèse de Piéron, prévoyant le polymorphisme avec quatre types de cônes, dont trois sensibles chacun à une couleur fondamentale et un quatrième sensible à la fois aux trois précédentes couleurs) formant une tétrade jouant un rôle physiologique grâce à un métabolisme de trois substances photosensibles, selon Young et Helmholtz.

La différence entre bâtonnets et cônes existe cependant, et les études de Greef (1889) chez les Poissons téléostéens comme Perchaet Leuciscus, où les cônes sont plus grands que les bâtonnets, ont permis de distinguer chez ce dernier quatre espèces de cônes : des grands et gros, des grands et fins, des petits, et des doubles. Il en est de même dans nos recherches personnelles chez la Grenouille le Poisson et divers animaux. Elles reposent sur l'examen des espèces reconnues sensibles aux couleurs, sur l'étude des formes et dimensions des cellules visuelles, sur l'étude comparative des relations des bâtonnets et des cônes avec les noyaux sous-jacents, et enfin sur la position des cellules et noyaux vis-à-vis de la limitante externe.

Dans les cônes existent des gouttelettes huileuses souvent absentes chez les Poissons, on a cru qu'elles contiendraient des substances intéressant la vision. D'après Verrier (1945) qui a étudié particulièrement ces gouttelettes huileuses au niveau des cônes des Oiseaux, elles seraient de nature lipoidique et colorées naturellement. Situées entre le segment externe et le segment interne des cônes ces gouttelettes ne sont pas seulement l'apanage des cônes, on peut les trouver dans diverses cellules visuelles et même dans les bâtonnets typiques des Oiseaux nocturnes comme la Chouette. Leurs propriétés optiques ont été examinées chez le Pigeon et la Tourterelle, sur des solutions de ces inclusions ou directement par spectrographie. Ces substances sont stables à la lumière. On est amené à les considérer comme des filtres et non comme des substances sensibles, malgré leur situation dans les cellules visuelles. Chez le Pigeon elles sont tellement abondantes dans les segments supérieur et postérieur du globe oculaire, que cette région de la rétine a reçu le nom de "Champ rouge". Le Faucon qui ne possède pas ce champ rouge, présente cependant une répartition des boules colorées analogue à ce qu'on observe chez la Tourterelle. L'acuité visuelle de la Tourterelle est légèrement inférieure à celle du Faucon et du Pigeon. Verrier pense que leur présence interviendrait dans l'acuité visuelle. Leurs courbes d'absorption ont des maxima au-dessous de 500 m μ , c'est-à-dire dans les zones du bleu, favorables à la vision nette.

Les substances obtenues par Von Studnitz chez la Couleuvre, Tropidonotus natrix, et présentant trois maxima d'absorption dans le rouge, le jaune-vert et le bleu, amènent Verrier à penser que les subs-

tances sensibles des cônes seraient indépendantes de la substance des gouttes huileuses, en se référant aux travaux de Granit sur la Tortue dont la rétine à cônes n'a pas de gouttelettes huileuses. Chez la Tortue la substance des cônes présente un maximum d'absorption vers 560 m μ et diffère de la rhodopsine, dont le maximum se situerait plus bas : 500 m μ .

Les travaux de Granit ont le mérite de montrer que le déplacement du maximum d'absorption du pourpre et de la substance des cônes se fait dans la même direction, d'où il peut résulter une certaine relation ou parenté chimique entre ces deux substances. Cette hypothèse serait nécessaire, selon Granit pour expliquer les résultats qu'il a obtenus avec les yeux des Rats. Il y trouve une substance sensible pour le vert en vision diurne, avec une bande spectrale superposable à celle du pourpre rétinien. Granit en conclut que la substance sensible pour le vert est, soit le pourpre rétinien lui-même, soit un dérivé modifié de celui-ci. Cette substance parente du pourpre du cône participe à la vision diurne ou photopique. Il est curieux de noter que les auteurs pensent, tantôt à plusieurs substances, tantôt à une seule substance polyvalente. Chez Granit par exemple, la courbe d'absorption de la substance des cônes de la Tortue a un maximum principal vers 560 m μ et variant dans le même sens que celle de la rhodopsine, ce qui fait penser à une seule substance apparentée au pourpre. Etant donné qu'elle n'est sensible qu'au vert en vision photopique, cela nécessiterait la présence d'autres pigments pour les autres couleurs. Cette intrication des réponses ne permet pas aux auteurs de se prononcer. Aussi les questions demeurent-elles en suspens.

II - Recherches personnelles. -

Nous avons étudié la substance des cônes en utilisant des réactions histochimiques chez diverses espèces animales et plus particulièrement chez la Grenouille et les Poissons.

Nous avons signalé au cours de nos réactions des nucléotides et des acides nucléiques au niveau des cônes, la présence de ces substances avec des répartitions différentes dans le cône et le bâtonnet. Dans le cône l'acide ribonucléique se trouve dans le segment interne, il forme soit une bande cytoplasmique qui va en s'élargissant, soit une coiffe reposant sur le noyau du cône et qui s'enfonce dans le segment interne en s'amenuisant comme pour se détruire. Sa localisation différente de celle du bâtonnet est plus interne et plus réduite.

Dans le segment externe du cône, de taille plus réduite, il existe une coloration du ribose due à des nucléotides, comme dans le bâtonnet. Cette coloration du segment externe des cônes, plus atténuée que celle du bâtonnet, jointe à celle des segments internes

fait apparaître, en gros, une certaine opposition dans la répartition des nucléotides entre le cône et le bâtonnet et traduirait leur différence de fonction selon la théorie de la dualité. Dans nos préparations histochimiques des animaux remis à l'obscurité pour la régénération de leurs substances, on observe en même temps une différence de protection des éléments visuels par les pigments. Cette différence de protection va de pair avec des constatations chimiques résultant des variations de coloration des fluorones observées à ce niveau. Lorsque les pigments protègent bien les cellules visuelles on observe une réaction colorée plus intense, inversement dans les régions moins protégées, la coloration est plus légère. C'est ainsi que la coloration du segment externe des cônes, rappelle les régions des bâtonnets, ayant subi une action lumineuse nette.

Cette coloration rose orangé, plus intense pour les bâtonnets que pour les cônes est due surtout aux nucléotides à ribose qui participent à leur métabolisme. La constitution chimique des pigments est analogue dans ces deux espèces cellulaires, seules leurs protéines diffèrent. Leurs produits de dégradation sont les mêmes, ainsi que les substances métabolisantes de leur cycle de régénération. C'est au niveau des cônes de grande dimension qu'on observe grâce aux colorations, une certaine analogie avec les bâtonnets, ce qui fait entrevoir le passage possible de l'un à l'autre par différenciation. Au niveau même des quatre types de cônes la présence de nucléotides les caractérise par leur coloration commune. Il existe chez eux une parenté de métabolisme des substances sensibles caroténoïdiques liées aux nucléotides, à des degrés variables. Les grands cônes du type 1 par exemple, sont légèrement plus colorés. Ceci impliquerait un substrat de substance sensible primitive, analogue dans tous les cônes, mais présentant selon le type considéré des liaisons plus ou moins nombreuses de substances caroténoïdiques en rapport avec les nucléotides et peut être aussi avec des glucides et des lipides. Cette association de substances métaboliques plus ou moins polymérisées renferme à divers degrés des produits de types caroténoïdiques plus ou moins évolués en direction de l'iodopsine (dans le sens de la synthèse), ou inversement - dans le sens des dérivés dégradés inactifs) qui seront plus ou moins remaniés et isomérisés pour être piégés par le support protéique (la photopsine) Cette différence de polymérisation et de concentration des dérivés plus ou moins sensibles (par exemple rouge visuel, orangé transitoire, jaune indicateur, blanc visuel etc. ou lumiiodopsine, métarhodopsine), permet aux cônes d'acquiescer une certaine sensibilité spectrale, que traduisent les nucléotides qui sont dans un certain rapport avec la quantité de leurs pigments. Les cônes, dans nos réactions, sont moins sensibles à la lumière que les bâtonnets ainsi qu'en témoigne le pâlissement de leur coloration.

Nous nous demandons si la lumière blanche, dans une première phase, ne contribuerait pas à libérer du complexe de vision

la substance proprement dite des cônes du substrat lipido-glucido-protéique du segment externe. Ces substances libérées agiront à leur tour dans un processus plus spécifique pour faire naître les influx correspondant aux lumières colorées. Dans nos préparations colorées avec les fluorones il existerait une certaine diffusion de substances lors des réactions de photolyse. De plus il semblerait que la synthèse dans les cônes ne serait pas aussi poussée que dans les bâtonnets.

Nous supposons que la substance des cônes appelée rhodopsine par Wald, serait liée à un cycle où ses produits secondaires de dégradation seraient des dérivés actifs des caroténoïdes, fixés sur la protéine. L'arrangement de la molécule de néorétinène avec la protéine (photopsine) leur confèrerait une stabilité plus grande, et des propriétés de différenciation des couleurs. Leur synthèse nécessiterait une intervention enzymatique nucléotidique moins importante et plus aisée que pour la rhodopsine.

Dans nos préparations histochimiques, les gouttelettes huileuses des cônes des rétines obscurées ou éclairées, ne sont pas colorées, elles sont vides de leur substance du fait de l'inclusion. Nous n'avons pas essayé de faire leur étude histochimique puisqu'il a déjà été démontré qu'elles n'intervenaient pas directement dans le mécanisme de la vision colorée. Dans nos recherches, seules les modifications de coloration des nucléotides nous ont suggéré leur rôle dans le processus de vision des lumières spectrales. La substance serait du point de vue chimique formée par des constituants identiques, mais à des états de liaisons différents justifiant dans certain sens, l'assertion par Studnitz (1937-1941) de plusieurs substances sensibles extraites chez l'Homme, le Cobaye, la Poule, le Cobra, la Grenouille et la Tortue, et d'une substance unique extraite par Hosoya et ses collaborateurs (1938), chez la Grenouille et présentant trois maxima d'absorption dans le spectre. La différence de ces résultats proviendrait peut-être du solvant ou des méthodes d'extractions, ainsi que des précautions prises pour ne pas trop altérer ou dénaturer la substance.

Dans nos préparations histochimiques la présence des nucléotides dans la substance des cônes des Vertébrés et de l'Homme se retrouve aussi dans les yeux des Arthropodes au niveau des ommatidies et particulièrement dans les cellules à rhabdôme. Les crustacés comme les Insectes n'ont pas de cônes, ni de bâtonnets et cependant ils voient très bien les couleurs. Notre travail tend à montrer que c'est l'acquisition de substance nouvelle pour la vision scotopique des clartés et de substance de vision photopique des couleurs, qui importe et qui permet d'enregistrer les différences de couleur signalées. Nous les étudierons plus loin lors de nos nouvelles recherches physiologiques au moyen de méthodes histochimiques plus récentes et plus complètes que celles utilisées dans la détection des nucléotides et

dans nos recherches préliminaires.

III - Travaux plus récents.

Examinons maintenant les travaux biochimiques plus récents sur la substance des cônes. En 1955, en même temps que l'étude de la rhodopsine et de la porphyropsine, Wald, Brown, Smith, Hubbard ont repris leurs travaux de 1937 sur l'iodopsine, contenant de la vitamine A1, et sur un autre pigment contenant de la vitamine A2 dont la synthèse "in vitro" a été faite, mais ce pigment "Cyanopsine" n'a pas encore été trouvé sur les rétines de Tortues où cependant ils ont pu déceler la présence de la vitamine A2, la différence entre iodopsine et rhodopsine est marquée surtout par la présence d'une protéine différente : la photopsine.

a) Travaux sur l'Iodopsine.

Ce pigment des cônes fut le premier isolé par Wald en 1937 de la rétine du Poulet particulièrement riche en cônes. Cette rétine contient un petit nombre de bâtonnets, c'est pourquoi lors de la préparation de l'iodopsine Wald avait obtenu un mélange d'iodopsine et de rhodopsine. La rhodopsine en plus faible quantité a été séparée du mélange pour l'obtention de l'iodopsine pure.

L'iodopsine du Poulet est un pigment violet, sa longueur d'onde d'absorption maximum est à 562 m μ , il présente un déplacement du maximum d'absorption vers 575 m μ sous l'action d'une irradiation de lumière rouge (650 m μ) touchant très peu le pourpre. Le caroténoïde actif de son cycle est le même que pour la rhodopsine, c'est le néorétinène b. Les enzymes couplées (alcool déhydrogénase et cozymase) ainsi que les isomérases sont identiques et ne présentent pas de structure particulière. Le point critique du cycle de l'iodopsine est la combinaison du néorétinène b avec la photopsine, cette combinaison spécifique s'opère de façon très rapide à l'obscurité : trois à cinq minutes au lieu d'une heure et doit probablement pouvoir se faire même dans la lumière à un seuil déterminé.

- Cycle de l'iodopsine -

Le cycle de dégradation de l'iodopsine est en tout point identique à celui de la rhodopsine.

Selon Wald et ses collaborateurs, il se formerait de la lumiiodopsine, puis de la métaiodopsine, et un mélange de all-trans rétinène A1 et de photopsine. Il existe un cycle de réduction et d'isomérisation de l'all-trans rétinène A1, en all-trans vitamine A1 : puis en néovitamine A1 b, ensuite en néorétinène b qui sera recombinaison avec la photopsine pour donner l'iodopsine.

Un cycle d'isomérisation direct de l'all.trans rétinène en néorétinène b, constitue une deuxième réaction photochimique de la rétine sous l'action de la lumière.

En somme, dans la rétine, le cycle d'isomérisation et de réduction est commun pour les bâtonnets et pour les cônes. Il s'effectue par les diastases couplées et les isomérases de la rétine et des franges pigmentaires, qui agissent sur les caroténoïdes devenus inactifs. La vitamine A1 et les différentes opsines sont apportées par le sang.

A notre avis, les opsines seraient aussi synthétisées sur place dans la rétine, puisque la préparation des opsines s'adresse à des extraits de rétine plutôt qu'au sérum ou au sang. Cette synthèse sur place pourrait être en rapport avec les acides nucléiques particuliers du segment interne des cellules visuelles. On connaît le rôle des acides nucléiques pour la synthèse des protéines. Ainsi synthétisées sur place, les protéines pourraient fixer plus facilement les dérivés caroténoïdiques, produits assez solubles et qui diffusent de l'épithélium pigmentaire vers les cellules visuelles. La présence des lipides et des glucides doit aussi intervenir pour favoriser la formation d'un dérivé pigmentaire de stockage assez labile et sensible pour les libérer sous l'action de la lumière dans un premier stade rapide, et pour rendre à ces produits leur possibilité essentielles, car pour beaucoup d'auteurs, la véritable réaction photochimique résiderait dans la dégradation des pigments classiques, rhodopsine et iodopsine, en dérivés intermédiaires.

- Synthèse de l'iodopsine et de l'isiodopsine.

D'une façon analogue à celle de la rhodopsine cette synthèse, d'après Wald et ses collaborateurs, peut s'effectuer "in vitro" (voir fig. 4)

On prépare d'abord une solution de photopsine de la manière suivante : à partir de la rétine de Poulet adaptée à la lumière privée ou non de la rhodopsine, on pratique une extraction des pigments des cônes, puis on irradie à la lumière rouge pour cliver l'iodopsine et libérer la photopsine. Après purification on obtient une solution de photopsine exempte de caroténoïdes. Ensuite on incube cette solution avec du néorétinène b synthétique à l'obscurité. Après trois à cinq minutes on obtient directement de l'iodopsine qui n'est pas différenciable de celle extraite de la rétine de Poulet. Cette iodopsine synthétique présente un maximum d'absorption à 562 mμ, et s'obtient plus rapidement que la rhodopsine.

Cette synthèse en réalité n'a pas été faite seule. Wald, Brown et Smith ont synthétisé l'iodopsine et l'isiodopsine en même temps que d'autres produits en incubant la photopsine des cônes avec les quatre isomères cis et trans du rétinène.

Voici leur mode opératoire :

Un extrait de rétine de Poulet contenant un mélange de rhodopsine et d'iodopsine est exposé à une forte lumière rouge jusqu'à ce que toute l'iodopsine soit pâlie en all-trans rétinène inactif et photopsine. Des parties de cette solution étaient incubées séparément avec quatre des isomères géométriques du rétinène. Après incubation et extraction, les spectres d'absorption des solutions résultantes sont mesurés par rapport à un témoin formé d'une autre partie du matériel pâlie à la lumière et à laquelle rien n'a été ajouté. A l'examen de leurs courbes d'absorption, on constate que le all-trans rétinène et le néocrétinène (a) n'avaient pas réagi ou à peine. Le néorétinène (b) avait par contre formé une quantité considérable d'iodopsine. (λ max. 562 m μ). L'isorétinène (a) avait formé environ la même quantité d'isiodopsine.

La synthèse de l'isiodopsine a montré que l'isorétinène (a) était actif et peut se combiner à la photopsine, mais, Wald pense que les isopigments, dans l'état actuel des recherches, doivent être considérés comme des artéfacts et qu'ils ne participeraient pas dans le processus de la vision et leur rôle à l'heure actuelle doit être réservé.

Cette synthèse de l'iodopsine selon le processus que nous venons d'exposer à partir des formes de rétinène actif aurait pu être préparée à partir d'un mélange des quatre substances : photopsine + alcool déshydrogénase (de foie de Cheval) + cozymase (de Levure ou de jaune d'oeuf) + vitamine A I (huile de foie de Poisson) selon le même schéma que celui de la rhodopsine.

On peut constater que lors de la synthèse de l'iodopsine, ce qui a changé vient de la protéine. Cette dernière confère à la molécule de l'iodopsine, un pouvoir d'absorption différent (longueur d'onde maxima 562 au lieu de 500 m μ). De plus, elle apporte un changement dans la synthèse, la vitesse de formation de l'iodopsine est ici beaucoup plus grande : 3 à 5 minutes d'incubation (iodopsine) "in vitro" au lieu d'une heure (rhodopsine). Et le produit formé est aussi bien plus stable à la lumière que la rhodopsine.

b) Travaux sur la Cyanopsine - sa synthèse.

Les auteurs ont essayé d'obtenir par synthèse le pigment correspondant de la porphyropsine avec la vitamine A 2.

En incubant de la photopsine de la rétine de Poulet avec le rétinène 2 actif provenant de la vitamine A 2 retirée des huiles de foie de Poisson d'eau douce, les auteurs ont obtenu un pigment

de synthèse, qu'ils ont appelé la "cyanopsine" parce qu'elle se présentait sous la forme d'une poudre bleue avec un maximum d'absorption $\lambda = 620 \text{ m}\mu$ dans le rouge orangé. Ce pigment n'était pas encore signalé dans les rétines à cônes, c'est pourquoi les auteurs l'ont recherché chez les animaux présentant cette particularité pour en faire son extraction.

Wald et ses collaborateurs ont utilisé la rétine de la Tortue du genre Pseudemys formée uniquement de cônes. Ils n'ont pas pu retrouver la cyanopsine ; probablement, disent-ils, parce qu'ils n'ont pas utilisé assez de Tortues, la substance des cônes se trouvant à un état assez diluée. Ils ont cependant essayé de voir s'ils pouvaient retrouver de la vitamine A 2 dans cette rétine. Au cours de nouvelles recherches, ils ont trouvé un résultat favorable, la vitamine A 2 est présente chez l'animal. Le pigment visuel des cônes de la tortue serait probablement en rapport avec cette vitamine. Ils citent à l'appui les travaux de Granit sur la Tortue européenne - Testudo graeca L. et sur la Tanche Tinca tinca L. Les mesures électrophysiologiques de Granit concernant la sensibilité spectrale de ces animaux, coïncident bien avec la bande d'absorption ($\lambda \text{ max.} = 620 \text{ m}\mu$) de la cyanopsine de synthèse. Pour Wald, Brown et Smith, il est peu douteux que la cyanopsine soit le pigment de la vision des cônes de ces animaux.

IV - Nos résultats à la lumière des acquisitions récentes ; remarques sur la vision des couleurs.

Nos résultats histochimiques au niveau des cônes, visant surtout à la détection des nucléotides ont montré une coloration de ces derniers au niveau des quatre types de cônes avec quelques légères différences dans la rétine obscurée et dans la rétine éclairée. Ils sont confirmés par les travaux de Wald, qui montrent que dans le cycle de l'iodopsine, le système des enzymes qui réduit le rétinène en vitamine A et conduit à l'isomère actif est toujours le même. L'alcool-déhydrogénase est toujours couplé avec la cozymase ou diphosphonucléotide à ribose. Cette dernière intervenant dans les différents stades de ce cycle, il est naturel de la retrouver histochimiquement. Les résultats de nos localisations nous ont amené à faire quelques constatations et remarques au niveau des cônes.

a) - Remarques sur l'absorption de l'iodopsine et la loi de Grothus et Drapper.

La rétine de Poulet renferme beaucoup de cônes plus ou moins polymorphes et différents de taille. De cette rétine peu riche en bâtonnets, Wald a obtenu en 1937 un pigment violet qu'il appela iodopsine et qui présente une bande d'absorption ($\lambda \text{ max.} 562 \text{ m}\mu$) dans le jaune.

D'après la loi de Grothus et Drapper 1841, seules les radiations absorbées par une substance peuvent agir sur elle. Il doit en résulter que le Poulet, en vision photopique, ne pourrait percevoir que la lumière jaune. Les mesures d'absorption de l'iodopsine avec les lumières spectrales seraient en faveur de la vision diurne du Poulet par le moyen des cônes, du fait que l'iodopsine est prépondérante sur la rhodopsine. La rétine du Poulet a une courbe de sensibilité rétinienne pour les lumières spectrales. Selon Wald, cette sensibilité est maxima pour $\lambda = 570 \text{ m}\mu$, proche de $562 \text{ m}\mu$. Cette valeur de sensibilité aux lumières spectrales rapproche le Poulet des autres Oiseaux : Pigeon, Tourterelle, Faucon, etc...

Verrier (1945) a signalé par l'étude du réflexe d'immobilisation avec les lumières colorées, que le Pigeon est très sensible aux couleurs surtout au jaune $\lambda \text{ max.} = 570 \text{ m}\mu$ et plus encore au rouge $\lambda \text{ max.} = 650 \text{ m}\mu$.

Donner (1953) en utilisant la méthode de Dressur a retrouvé chez le Pigeon une sensibilité rétinienne à $570 \text{ m}\mu$ tout comme Wald, mais il en retrouve une autre vers $650 \text{ m}\mu$. D'après les observations de Verrier et de Donner, le Pigeon doit se comporter vis à vis des couleurs de la même façon que le Poulet.

De plus, le Coq que Lashley (1916) avait dressé selon la méthode de Dressur (1916), est capable de discerner le rouge à $650 \text{ m}\mu$, des autres lumières colorées et blanche, de toutes les brillances. Cette différence venant de la non absorption de l'iodopsine trouvée par Wald, n'est pas conforme à la loi de Grothus et Drapper.

Nous avons examiné les courbes de Wald et de ses collaborateurs et des divers auteurs pour rechercher, au niveau de $650 \text{ m}\mu$ l'existence possible d'une absorption. Les courbes de Wald ne montrent pas d'absorption ni de maximum à ce niveau. L'extinction est presque nulle pour l'iodopsine et l'isiodopsine (voir fig. 4).

Il en est de même sur la courbe du spectre d'absorption de l'iodopsine dressée par Segal d'après Hönigsmann (1921) (voir fig. 5).

De même dans la courbe de l'iodopsine de Wald, mais redessinée par Segal, il existe bien un maximum à $510 \text{ m}\mu$ correspondant à la présence de la rhodopsine, et un autre à $570 \text{ m}\mu$ correspondant à celui de l'iodopsine, mais il ne semble pas qu'il y ait un maximum vers $650 \text{ m}\mu$ (voir fig. 6).

Si le pourpre rétinien est peu sensible à la lumière rouge, il n'en est pas de même de l'iodopsine. Wald connaît cette sensibilité au rouge, puisqu'il utilise cette action pour obtenir un blanchiment plus ou moins poussé ou même total, dans la préparation de la photopsine.

Il est curieux que, d'après la loi de Grothus et Drapper, l'iodopsine ne donne pas un maximum d'absorption dans la région de 650 m μ car sa sensibilité pour le rouge a été démontrée par Verrier, Donner et Lashley chez le Pigeon et le Poulet, plus grande que pour le jaune, le vert et le bleu.

Les courbes d'absorption des lumières spectrales de l'iodopsine et de l'isorhodopsine de Wald montrent des absorptions vers 570, 507 et vers 350 m μ correspondant à l'iodopsine, l'isorhodopsine et les caroténoïdes libérés. Ces maxima d'absorption traduiraient la sensibilité du Poulet pour le jaune, le vert et le bleu. Dans ces courbes, l'absorption dans le rouge manque. Au-delà de 600 m μ , la courbe descend régulièrement jusqu'à 700 m μ . Cette non absorption relevée sur les courbes spectrales, n'est pas conforme à la loi de Grothus et Drapper et aux données expérimentales. Nous nous sommes demandé :

1°/ - Si l'iodopsine n'était pas le composant d'un complexe d'iodopsine et d'un autre produit absorbant le rouge, analogue à la cyanopsine A2 (λ max = 620 m μ). Etant donné que chez le Poulet la vitamine est du type A I, que les isomères ont été étudiés (néorétinène a - all trans rétinène - néorétinène b - isorétinène a) et que les techniques de synthèse et d'extraction sont récentes, il est peu probable qu'il en soit ainsi.

2°/ - Si la lumière rouge, démontrée très active sur la rétine du Poulet, n'agirait pas de façon énergique sur le pigment des cônes (qui en fait doit absorber le rouge) pour la transformer en produit insensible au rouge, cette transformation rapide, ne permettant pas de relever l'absorption réelle mais fugace de la lumière rouge dans les courbes.

Wald avait pensé que les globules graisseux colorés de nature caroténoïdique joueraient le rôle d'écran, orange (astaxanthine), jaune doré (xanthophylle) jaune - vert (carotène) presque incolore (galloxanthine). Couplés avec l'iodopsine, ils peuvent fournir la base d'un système tétrachromatique.

Mais comme chez les Mammifères il n'existe pas de tels filtres colorés, Wald pense que la vision colorée serait obtenue par l'intermédiaire de différents pigments photosensibles disséminés parmi les cônes, avec des combinaisons variées entre protéines et caroténoïdes. Notons que cette manière d'interpréter la vision chez les Mammifères, et l'adoption par Wald de plusieurs substances photosensibles pour la vision colorée, constituent un changement involontaire de conception : abandon partiel de la théorie photochimique de Hecht et adoption de la théorie de plusieurs substances selon Young- Helmholtz.

Nos recherches histochimiques détectant seulement les rapports des nucléotides et des caroténoïdes, n'ont pas plus de préférence pour une théorie que pour une autre, dans les deux sens il y aura toujours la présence des pigments photosensibles et leur métabolisme nucléotidique. Cependant, si on suit l'idée première de Wald pour une substance de cône comme l'iodopsine ou la cyanopsine, nous pensons qu'elle peut permettre la sensation du rouge, la sensibilité particulière d'un complexe d'iodopsine, à la lumière rouge, fait que le maximum d'absorption manque pour les raisons énoncées. Le pigment des cônes pourrait en réalité couvrir les quatre couleurs du spectre : rouge, jaune, vert et bleu.

Cette sensibilité particulière du pigment des cônes pour le rouge peut s'expliquer par le développement ontogénique et embryonnaire. Le rouge étant le dernier acquis, est le système le plus fragile. Il en est de même du bleu, qui le précède dans le développement. Il sera absorbé par un produit sensible au bleu comme l'orangé transitoire provenant de la dégradation de l'iodopsine.

Cette sensibilité expliquerait aussi le phénomène de Purkinje, lorsque l'oeil est adapté à l'obscurité, et qu'il passe à la lumière vive, sa sensibilité se déplace vers le rouge, justement parce que la lumière blanche démasque le complexe iodopsine au niveau des cônes. Les dérivés plus sensibles au rouge doivent, par leur propriétés, contribuer à ce déplacement. Leur synthèse plus rapide que dans les bâtonnets compense leur usure et aide à la formation des dérivés caroténoïdiques sensibles et plus dégradés.

Cette réaction impliquerait au niveau des cônes, des pigments dégradés, type orangé transitoire ou jaune indicateur et de formation rapide à côté de l'iodopsine.

b) - Remarques sur la parenté chimique des substances des bâtonnets, et des cônes - l'orangé transitoire.

Nos préparations histochimiques montrent quatre types de cônes de coloration analogue mais d'intensité variable. Les grands cônes sont plus colorés que les autres. Leur coloration et comportement vis-à-vis des lumières apparentent leur substance à celle des bâtonnets. La coloration des fluorones suggère aussi un lien de parenté chimique entre les substances des quatre types de cônes. Vraisemblablement cette parenté se traduirait par l'existence du mélange du pigment initial des cônes avec ses différents produits intermédiaires de dégradation, allant du pigment violet à l'all trans rétinène jaune, en passant par les lumi, méta,iodopsines, diversement colorées. Ces produits correspondraient au rouge visuel, à l'orangé transitoire, au jaune indicateur, au blanc visuel etc. Mais ils dériveraient de la substance du cône.

Une mention particulière doit être réservée à la substance qui paraît relier les substances des cônes et des bâtonnets. Elle est décelée par la ressemblance de coloration (grâce aux fluorones). Elle est en rapport avec le système caroténoides-nucléotides par sa localisation dans les bâtonnets et dans les cônes avec des différences signalées. Cette substance par ses aspects, paraît avoir une relation avec l'orangé transitoire, car on connaît une substance orangé transitoire des bâtonnets et une substance orangé transitoire des cônes, qui ont des caractéristiques voisines ou presque identiques.

L'orangé transitoire des bâtonnets étudié surtout par Lythgoe et ses collaborateurs (1938), possède un maximum d'absorption λ_{max} (470-480 $m\mu$). De la région maculaire des Macaques formée par des cônes, Hanström, en 1940, a extrait un pigment sensible ayant un maximum d'absorption principal à 460 $m\mu$ qui correspond à l'orangé transitoire des bâtonnets et un deuxième maximum particulier beaucoup plus faible entre 590 et 630 $m\mu$. Chez l'Homme, Wald en 1949, a déterminé un pigment maculaire analogue ayant un maximum d'absorption ($\lambda_{\text{max}} = 460 - 470 m\mu$).

Berger et Ségal ont pu déterminer en 1950, chez l'Homme, le spectre d'absorption de l'orangé transitoire maculaire. Le maximum est décalé de 20 $m\mu$ vers le rouge par rapport à la courbe de Hanström $\lambda_{\text{max}} = 480 m\mu$, ce chiffre est le même que celui de Lythgoe. Cette courbe présente une montée vers 400 $m\mu$ qui serait due à la présence du jaune indicateur, et un maximum dans le rouge orangé à 645 $m\mu$ qui est particulier à l'orangé transitoire, car il ne se retrouve pas dans le pourpre rétinien, il s'efface lors de la conversion de l'orangé en jaune indicateur. (Voir fig. (6)1 et (6)2).

On voit grâce à ces déterminations, que l'orangé transitoire des cônes de la région maculaire peut absorber les lumières bleu vert. Il est relié aussi avec le jaune indicateur qu'on retrouve dans l'absorption du bleu-violet, il est en plus relié à une autre substance absorbant les radiations dans le rouge orangé. Cette substance se retrouve de façon constante dans les courbes de pigment maculaire de l'Homme et du Macaque, avec les caractéristiques signalées.

D'après ce que nous avons exposé plus haut au sujet de la sensibilité de l'iodopsine des cônes du Poulet, on peut se poser les questions suivantes : cette substance constante et caractéristique dans la courbe spectrale de l'orangé transitoire maculaire de Macaque et de l'Homme, ne serait-elle pas le reliquat d'une iodopsine maculaire, moins sensible au rouge que celle des cônes extra-maculaire ? ou bien serait-elle le témoin d'une synthèse moins poussée au niveau des cônes maculaires.

La possession au niveau des cônes du pigment violet plus ou moins condensé, de l'orangé transitoire, ainsi que les autres dérivés dégradés, permettrait aux quatre types de cônes d'avoir une base de vision tétrachromatique. Elle doit se retrouver aussi dans les cônes de l'Homme, des Primates, des Mammifères, des Batraciens, des Reptiles et des Poissons etc., c'est ce que nous avons observé souvent au cours de nos examens histochimiques à travers les espèces animales.

Notre conception par exemple du mélange du pigment plus ou moins condensé et de ses dérivés en proportion variable, mais provenant d'une même substance initiale aurait l'avantage de s'appuyer sur des observations directes.

D'ailleurs Y. Le Grand, déjà en 1946, avait pensé qu'il était très probable que pigments des cônes et bâtonnets soient parents et puissent même échanger une partie de leur cycle.

c) - Confrontation de nos résultats avec les recherches de : Svaetichin, Peiper, Granit et Trincker.

Nous devons signaler les travaux de Granit (1941) et Svaetichin (1956) sur la vision des couleurs, ils utilisent particulièrement la méthode des enregistrements électrophysiologiques au moyen d'électrodes améliorées et d'un outillage d'enregistrement des "spikes" rétiniens traduisant l'activité des modulateurs et des dominateurs. Svaetichin insiste sur le fait que la vision des cônes est essentiellement en relation avec les cellules ganglionnaires que Polyak a démontrées être, de type "midget". Ce type de cellules est le plus petit et il serait le seul à refléter la vision des couleurs, et les neurones de grande dimension, de type diffus, reliés à la fois aux cônes et aux bâtonnets ne transmettraient que des activités liées à la vision photopique non colorée. Il est probable, selon Svaetichin, que ce sont principalement les cellules ganglionnaires de type "midget" qui moduleraient les sensations chromatiques, ces signaux seraient constitués par des décharges régulières, se continuant tant que dure le stimulus coloré. Ces réponses de type "on off" peuvent s'ajouter au signal de luminosité transporté par les cellules ganglionnaires de grande dimension. Il semble probable d'ailleurs que les cellules ganglionnaires diffuses transmettent aussi les signaux des chromorécepteurs venant des cellules "midget", si bien qu'il est difficile de bien séparer les effets des bâtonnets et cônes sensibles à la lumière, de ceux des cônes sensibles seulement aux couleurs. Cependant, en prenant certaines précautions, il a cru pouvoir les différencier chez un Poisson le Muge du Brésil et autres espèces de Poissons. Pour Svaetichin, la vision des couleurs des Poissons est très proche de celle de l'Homme, elle serait liée à la présence des cônes doubles, et la

vision des luminosités serait en rapport avec les cônes simples (type L). En effet dans un cas Svaetichin trouve chez le Muge du Brésil surtout des cônes doubles et il a pu enregistrer leurs courbes de sensibilité avec des maxima de réponse dans le rouge à $639\text{ m}\mu$, dans le vert à $506\text{ m}\mu$, ainsi que celles sensibles au jaune et au bleu, respectivement à 610 et $460\text{ m}\mu$. Ici les cônes doubles sont reliés avec les cellules ganglionnaires "midget". Dans un autre cas, chez la Brême, Poisson de profondeur, à rétine riche surtout en cônes L il ne retrouve qu'une courbe de sensibilité pour le jaune-vert avec un maximum à $574\text{ m}\mu$. Chez ce Poisson, il trouve qu'un grand nombre de pieds de cônes L vont directement faire leur contact synaptique sur les péricaria des grands neurones diffus adjacents. Dans ce cas, la courbe des réponses spectrales des cônes L est une courbe à réponse hyperpolarisante monophasique avec maximum vers $574\text{ m}\mu$ correspondant au jaune-vert, tandis qu'avec le Poisson à cônes doubles (R. G et Y. B) les courbes montreraient des potentiels de signes opposés : hyperpolarisation et dépolarisation respectives à $639\text{ m}\mu$ et $506\text{ m}\mu$ pour le rouge et le vert, et de même pour le bleu et le jaune à 460 et $610\text{ m}\mu$. Ces résultats ont suggéré à Svaetichin l'existence d'une dualité possible de la fonction des cônes du type L pour la vision de la lumière et des couleurs ; cependant ils montreraient d'après nous, la possibilité surtout d'une parenté entre les cônes et les bâtonnets et d'un lien commun entre la rhodopsine et l'iodopsine. En effet dans le cône L de la Brême la substance sensible se comporte comme une substance proche de la rhodopsine des bâtonnets comme si ce cône était resté près du stade de cône primitif avec peu de différenciation des protéines, alors que les cônes doubles du Muge ont mieux évolué vers l'acquisition des pigments sensibles aux couleurs plus proches des dérivés de l'iodopsine. On conçoit, d'après ces résultats la différenciation progressive possible de la substance des cônes sensibles à la lumière et proches de la rhodopsine en substance sensible aux couleurs voisine de l'iodopsine, grâce à la différenciation de leur fraction protéique. La vision des couleurs chez les animaux à cônes doubles serait pour nous, non pas le fait qu'ils sont doubles ou jumelés ; mais le fait d'une acquisition séparée de substance sensible aux couleurs, puisqu'ils répondent séparément tout en étant associés.

Svaetichin signale en outre une différence d'amplitude entre les réponses des cônes doubles (Y) et (B) (celle du jaune étant environ le cinquième de celle du bleu), ce qu'il ne s'explique pas.

Cette réponse d'amplitude différente observée avec des cellules ganglionnaires de type "midget", - les plus petites et sensiblement égales - doit provenir, selon nous, de la différence de volume et de dimensions des cônes. Les amplitudes des réponses électriques sont souvent en rapport avec la dimension du protoplasme des cellules nerveuses ; ici ce sont les cellules sensorielles qui répondent et qui hyperpotentialisent ou repolarisent la réponse

grâce à la richesse variable de leur substance sensible observée dans nos localisations et correspondant aux résultats de Svaetichin (les électrodes sont placées dans le myoïde ou l'ellipsoïde du cône).

Nous donnerons plus loin une autre explication possible de cette différence d'amplitude.

Les résultats de Svaetichin (1958) concernant la réponse hyperpolarisante et dépolarisante des cônes, sont conformes à ceux de Motokawa (1956) qui a trouvé quatre sortes de réponses dans les cônes d'espèces de Poissons différentes avec des valeurs voisines. Les résultats de Motokawa montrent aussi l'hétérogénéité des réponses des cônes vis-à-vis des couleurs qui se classent selon un certain ordre de grandeur croissante, que nous avons constaté être en rapport avec les réponses des cônes de dimensions croissantes ou décroissantes que nous avons décrits.

Cette différence de comportement des cônes vis-à-vis des couleurs avait été signalée aussi par Granit et Wrede (1936). Les réponses dans le bleu et le violet, de l'oeil adapté à la lumière ou à l'obscurité, sont de potentiel plus élevé dans cette région du spectre que celles du rouge et du vert. Et Granit et Wrede ont rejeté comme d'habitude les résultats d'autres auteurs, ayant signalé que les réponses au rouge et au vert étaient équipotentielles et perçues par les mêmes éléments ou associations de deux éléments. Ces résultats de Granit et Wrede suggérant au moins deux éléments différents (séparés mais plus ou moins reliés) sont conformes avec nos observations histologiques.

La parenté chimique entre cônes et bâtonnets des Grenouilles, trouvée dans nos résultats, est éclairée de façon intéressante par les travaux de Birukow (1949). En étudiant l'acuité visuelle des Grenouilles vertes par la méthode optomotrice durant le développement larvaire, Birukow a trouvé chez les Grenouilles adultes un phénomène de Purkinje indiscutable avec un maximum de luminosité dans le jaune pour la vision diurne et un maximum dans le jaune-vert pour la vision crépusculaire. Et histologiquement, les Grenouilles adultes possèdent des bâtonnets et des cônes. Ce phénomène observé chez l'adulte manque presque complètement dans les premiers stades larvaires. Les têtards n'ont présenté qu'une courbe de la vision des cônes seulement, pour toutes les intensités lumineuses. Les têtards jeunes se comportent comme s'ils voyaient exclusivement, avec les cônes. Au fur et à mesure de leur développement leur courbe se rapproche de la courbe typique de vision crépusculaire de la Grenouille adulte, avec phénomène de Purkinje. L'étude histologique de contrôle (faite par Birukow) montre chez la Grenouille à l'état larvaire que les cônes et les bâtonnets avaient pour origine une étape commune :

un cône. Les cônes atteignent leur morphologie définitive typique très rapidement, tandis que la différenciation des bâtonnets dure jusqu'à la métamorphose.

Ces observations montrent l'antériorité du cône sur le bâtonnet ce qui semble être en accord avec les résultats de nos réactions colorées montrant que les substances des cônes sont plus simples et moins condensées dans l'échelle de synthèse des pigments visuels que celles des bâtonnets.

La vision colorée du têtard de Grenouille débute par la sensation du jaune, puis du vert, la sensation du bleu apparaît avec la différenciation des pattes postérieures, et celle du rouge plus tardive avec la métamorphose. Malgré l'avance de maturation de leurs cônes, les larves de Grenouille n'acquièrent le sens coloré qu'à peu près en même temps, que l'acquisition des bâtonnets. Birukow explique ce fait par la nécessité du développement de l'appareil nerveux au cours duquel le rouge se montre ontogéniquement plus jeune que le bleu.

Les travaux sur le développement des sensations primaires des couleurs chez les prématurés, nouveaux-nés et nourrissons, faits par (Peiper (1926), utilisant le réflexe de la flexion de la tête sur le cou ainsi que les travaux de Trincker (1954) avec des moyens analogues et plus divers, montrent que le stade de l'acquisition d'une maturité de l'analyseur nerveux est difficile à préciser. Pour Trincker la perception des couleurs existe dès le deuxième ou troisième mois, si on se réfère au test des réactions primaires, tandis que d'autres auteurs prétendent que la vision des couleurs n'est acquise qu'à partir de trois ans et plus. Ces différences proviennent d'une différence de définition de la sensation colorée.

Il existe une vision primaire des couleurs sans différenciation colorée, elle se trouve sous la dépendance d'une absorption directe et sélective des rayons de différentes longueurs d'onde et des processus chimiques déclenchés par ceux-ci dans les récepteurs. La reconnaissance des qualités de couleur n'est pas nécessaire pour obtenir la réponse. La différenciation des couleurs souvent dépend de l'appareil nerveux en relation avec les cônes. Cette différenciation consciente de la couleur ne vient qu'ensuite, c'est ce qui explique que certains auteurs prétendent qu'elle n'apparaît qu'après la troisième année.

Ces résultats montrent qu'au niveau de la rétine, les réponses des cônes aux couleurs (que nous envisagerons dans nos réactions histochimiques) sont des réponses primaires et en rapport plutôt avec les substances photochimiques particulières. Ils concordent bien avec nos résultats expérimentaux.

La constatation histologique au niveau de la rétine d'un stade commun à partir des cônes primitifs au cours de l'évolution ontogénique des éléments sensibles, ainsi que l'existence des réponses colorées primaires dans les différents éléments visuels au cours du développement postnatal prématuré ou normal, sont en bon rapport avec nos résultats et peuvent contribuer à montrer la parenté chimique des substances sensibles des bâtonnets et des cônes, et l'évolution de celle-ci.

Les résultats que nous venons de rappeler sont en accord avec les idées de Walls sur l'antériorité des cônes qui, selon lui, peuvent se transformer en bâtonnet et vice-versa. Il existerait selon lui une transmutation des éléments visuels en rapport avec le mode de vie. Cette manière de voir expliquerait dans la série animale, la présence d'autres pigments plus divers encore, qui ont été rassemblés par Morton, Goodwin en 1956. Chez l'Homme on a trouvé au niveau des cônes un autre pigment : le violetrécepteur, $\lambda_{\text{max}} = 436 \text{ m}\mu$ chez le Cobaye : les pigments 470 et 510 $\text{m}\mu$, l'Ecureuil : pigment 535 $\text{m}\mu$, le Xénopus : pigments 519 - 560 et 570 $\text{m}\mu$, la Tanche : pigment 467 $\text{m}\mu$, les Calmars (Loligo peali Lk) : pigment céphalopsine 490 $\text{m}\mu$, les Crevettes (Euphausia pacifica) : pigment euphosiopsine 462 $\text{m}\mu$, chez les Poissons d'eau douce en particulier le Brochet (*Esox lucius* L) : porphyropsine 522 $\text{m}\mu$.

Ces résultats montrent, au niveau des bâtonnets et des cônes la possibilité d'avoir des pigments absorbant des longueurs d'onde différentes. Selon le mode de vie, il y aura prépondérance d'un groupe par rapport à l'autre, soit des caroténoïdes par exemple, soit des autres substances évoluant vers l'acquisition de la vision de lumière blanche et des couleurs. Pour une espèce donnée et reconnue posséder une vision précise, les substances trouvées au niveau des cônes ou des bâtonnets ne sont pas diverses. Elles doivent toutes avoir un type classiques défini. Autour de celui-ci graviteraient les dérivés moins différenciés et contribuant à le former. Leur mélange dans un certain rapport permettrait les visions différencielles. La présence de plusieurs substances différentes (isomériques ou autres) est possible, mais l'étude des isomères actifs a montré que leur nombre est limité et les produits formés ont des spectres d'absorption très voisins ou décalés. D'ailleurs les substances isomériques ont été considérées par Wald et ses collaborateurs comme des artéfacts, seul le néorétinène (b) a été retrouvé dans la rétine et non ailleurs. Il y aurait lieu de penser qu'en fait, la théorie de Hecht et celle de Young et Helmholtz expliquent le même phénomène, seule varie la conception du phénomène considéré comme important, à savoir si on se place du point de vue effet photochimique de la lumière sur le pigment stocké et la cellule visuelle, ou bien du point de vue de la perception lumineuse et colorée avec réaction de la substance active et départ de l'influ...

IV - ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA RETINE - SENSIBILITE

DE L'OEIL ET VISION DES COULEURS A L'AIDE DES REAC-

TIONS HISTOCHIMIQUES .-

A - Généralités.-

Au cours de notre précédente étude des substances sensibles des bâtonnets et des cônes, en particulier des nucléotides à ribose et des acides nucléiques, nous avons montré qu'elles intervenaient dans les phénomènes de la vision chez les Batraciens, Reptiles et divers animaux. Mises en évidence grâce à la coloration rose orangé donnée par les fluorones, ces substances ont montré la décoloration du segment externe des bâtonnets avec la lumière blanche, et la résistance relative des cônes. Sous l'effet de la lumière bleue démontrée active sur l'orangé transitoire et sur les dérivés du pourpre, nous avons pu remarquer la décoloration du segment externe des cônes de grande taille, avec un léger pâlissement des autres cônes.

Ces observations nous avaient suggéré l'idée que ces substances participent à l'élaboration des pigments, soit en entrant dans leur molécule par liaison avec le support protéique, soit en participant dans leurs cycles d'élaboration pour favoriser la récupération des caroténoïdes, et aider à la formation des pigments, car leur richesse paraît être en rapport avec la teneur des groupements caroténoïdiques de la vision.

Leur disparition, leur différence d'intensité et de répartition au cours des expériences de photolyse avec la lumière blanche et les lumières colorées seraient le reflet de la différence de la constitution chimique de la rhodopsine et de l'iodopsine, et des teneurs en produits constitutifs de l'iodopsine.

La présence des nucléotides se retrouve chez toutes les cellules visuelles en particulier chez les divers types de cônes, mais leurs réponses aux lumières spectrales montrent des différences qui témoignent que l'iodopsine se dégrade et s'amenuise, de façon histophysiologique en rapport avec le comportement de la rhodopsine.

Les bâtonnets seraient sensibles à la lumière blanche.

Les cônes, moins sensibles répondraient de façon préférentielle aux excitations colorées monochromatiques, et permettraient la perception des couleurs; c'est le cas de la réponse des cônes de grande dimension du type (I), vis à vis de la lumière bleue reconnus lors de nos essais physiologiques préliminaires.

Des expériences de photolyse en lumière blanche et bleue, sur la rétine mixte de la Grenouille (Rana esculentaL.) nous ont permis d'entrevoir le dualisme cellulaire des bâtonnets et des cônes, la réponse des cônes vis à vis des lumières colorées.

La lumière bleue est démontrée active sur la rétine étalée de Grenouille et sur des solutions de pourpre rétinien. D'après Segal son action serait assez spécifique sur l'orangé transitoire.

Cette substance intermédiaire existant dans les bâtonnets et dans les cônes et révélée histochimiquement de façon analogue, ne diffère selon son origine que par l'opsine non colorée par notre méthode. Elle suggérerait une parenté entre les bâtonnets et les cônes. Les uns dérivant des autres par différenciation et acquisition d'une substance protéique de la même famille, mais légèrement différente, car elle détermine une résistance relative à la lumière et une recombinaison plus rapide des pigments des cônes. Du fait aussi de leurs liaisons plus ou moins solides sous l'effet des lumières, les cônes étant plus résistants que les bâtonnets, il s'ensuit des différences dans le comportement des substances sensibles et leurs dérivés de dégradation souvent en rapport avec la condensation et la rapidité de synthèse des pigments. Les substances intermédiaires par une action chimique différentielle peuvent provoquer le départ des influx correspondant aux lumières excitatrices.

Leur détection histochimique permettra de préciser la réponse spectrale des divers types de cônes, leurs réactions colorées traduisant les variations des substances photosensibles de leur segment externe, et d'interpréter les modifications histophysiologiques en rapport avec la vision des couleurs.

I/ L'Appareil de la vision à travers les espèces

animales.-

Avant d'aborder les essais physiologiques sur la rétine, nous avons fait une étude comparée de l'aspect morphologique et histologique de l'appareil de la vision, des cellules sensorielles et de leur développement à travers les espèces animales jusqu'à l'Homme.

Les cellules visuelles des Vertébrés sont de deux types principaux: les bâtonnets et les cônes. Cette division est assez schématique comme le montrent les connaissances ontogéniques, philogéniques, morphologiques et physiologiques récentes. Dans une rétine mixte on peut les reconnaître assez aisément, cependant dans certaines, il existe comme l'ont vu Verrier (1945) et d'autres auteurs, une transition insensible. Le bâtonnet peut ressembler structurellement à un cône. D'ailleurs le bâtonnet ontogéniquement peut dériver d'un cône primitif qui se différencie pour s'adapter à une nouvelle fonction.

Des auteurs avaient proposé de les dénommer d'après leur physiologie : scotocytes et photocytes. C'est surtout leur fonction qui les distingue.

A l'origine, la cellule primitive des bâtonnets et des cônes était dépourvue de substance différenciée et hautement spécialisée. En examinant la perception lumineuse dans l'échelle animale on a pu relever, chez les être inférieurs qui ne possèdent pas des yeux différenciés, l'existence d'une sensibilité par l'intermédiaire de formations histologiques très simplifiées. Les travaux de Viaud (1938) distinguent chez les Plantes une simple sensibilité plasmatique à la lumière. Puis on a montré chez les Animaux une sensibilité derma-optique conditionnée par la sensibilité cutanée à la lumière. Ensuite seulement, apparaît une photoréception visuelle avec

des yeux particuliers. La sensation derma-optique correspond aux radiations violettes et ultraviolettes. La sensation visuelle primitive est située dans le jaune et le vert. Ceci existe chez les animaux et chez l'Homme (prématuré et jeune nourrisson). (Trincker, Magitot, Bach).

Chez les Invertébrés la sensibilité à la lumière existe chez les Mollusques et les Articulés. De même chez les Vertébrés, cependant elle peut manquer chez beaucoup de Poissons. On a démontré qu'elle existait chez les Amphibiens. Ehrenwald a essayé de la démontrer chez l'Homme.

La photoréception visuelle s'est développée déjà chez les animaux inférieurs par l'apparition de formations histologiques. Les premières sont apparues chez les Coelomates (Hyponeuriens, et Epi-neuriens).

Chez les Hyponeuriens on note parmi les Vers inférieurs des organes photorécepteurs, primitifs, enfouis et plus ou moins développés.

Dans le lade des Platodes des organes photorécepteurs s'observent chez les Turbellaries, Triclades et Polyclades. La Dendrocèle possède des yeux avec épithélium pigmentaire, cellules rétinienues, nerf optique et ganglion optique. Chez les Polyclades l'oeil ne présente pas de cristallin et la rétine est renversée. Chez les Trématodes parasites, seule la larve possède des yeux reliés au ganglion cérébroïde.

Les Rotifères voisins des Nématodes avec la Philodyna montrent des yeux simples, sphériques, réfringents reliés au cerveau par des nerfs optiques.

Parmi les Lophophoriens, les larves de Brachiopodes possèdent des yeux primitifs, de même la larve trochophore des Sipuncles, Les Chetognates marins, avec la Spadelle présentent deux taches dorsales oculiformes.

Par la suite l'appareil de la vision des Hyponeuriens va prendre à partir des Annelides deux directions de différenciation pour l'acquisition de la sensibilité et de la perception des couleurs.

La première procèdera sans l'intermédiaire des cônes et des

bâtonnets. L'appareil de vision prendra une forme très différenciée et particulière chez les Arthropodes, il se développera en partant des Crustacés jusqu'aux Insectes qui possèdent une perception lumineuse et colorée très développée.

La deuxième forme de différenciation, qui se rapproche beaucoup plus de celle de l'Homme, suivra celle des Mollusques Hyponeuriens primitifs pour aboutir à l'organe de la vision des Céphalopodes par l'intermédiaire des cellules visuelles classiques. Les Céphalopodes possèdent une bonne vision et on a démontré qu'ils sont sensibles aux couleurs.

Les Annelides ou Vers segmentés, présentent une amélioration de leurs organes photorécepteurs si on les compare aux Vers plats. Leur système nerveux est moins latéral, et plus ventral, et leurs yeux sont des vésicules recouvertes par une enveloppe épithéliale.

Chez les Polychètes les yeux souvent dorsaux et céphaliques sont plus ou moins nombreux. Leur structure assez simple, montre des cellules sensorielles avec des pigments dans leurs parties profondes, et la partie antérieure hyaline, joue le rôle de cristallin. Ces yeux sont en outre reliés au cerveau par des nerfs optiques.

Les Achètes ont des organes photorécepteurs placés dans un enfoncement cylindrique sous le tégument, le tout est recouvert par un épithélium. La couche externe du cylindre pigmentée, correspond à la choroïde. La couche interne, plus épaisse, correspond à la sclérotite. A l'intérieur, de part et d'autre du nerf central se trouvent les cellules visuelles reliées au nerf, par des fibres. La cellule visuelle ici possède une sorte de différenciation cornée analogue à un cristallin primitif. Les organes récepteurs sont plus ou moins nombreux, chez Hirudo medicinalis L. il existe cinq paires d'yeux.

Les Oligochètes adaptés à la vie terrestre ou aquatique n'ont pas d'yeux, car ils sont de mœurs nocturnes; mais ils possèdent des cellules lumineuses de Hesse placées sous les téguments, avec une sorte de cristallin. On les trouve chez le Lombric très sensible à la lumière sauf lors de l'accouplement.

La sensibilité vis à vis de la lumière des Annelides, leur possibilité d'orientation plus différenciée que chez les Vers inférieurs, et leur tendance à acquérir de nombreux photorécepteurs montrent

que c'est vraisemblablement à partir d'eux que l'espèce animale cherche sa voie pour l'acquisition de la sensibilité et des couleurs. C'est probablement à leur niveau que les Arthropodes Hyponeuriens, voisins des Annelides vont se dégager des Vers, pour acquérir un développement nerveux pouvant analyser les couleurs et des perfectionnements particuliers.

Cette différenciation s'observe chez les Arthropodes avec la présence de chitine et de nombreux autres caractères. Les Arthropodes ou Chitinophores les plus primitifs, ont déjà des yeux avec des nerfs correspondants, les reliant au cerveau. Leur structure sera plus complexe, on y trouve : épiderme, cuticule, cristallin, cellules rétinienne, cellules pigmentaires, nerf optique, ganglion optique, système nerveux.

Les Trilobites Pro-arthropodes avec les Triarthrus Becksi ont des yeux, chez Agnostus les ocelles sont groupés, et chez les Phacopydés les ocelles sont isolés les uns des autres. La structure des ocelles multiples, isolés, ou groupés, représente déjà un caractère de transition.

Les Mérostromacés Euarthropodes Chelicerata, avec les Xyphosures ont des yeux frontaux et latéraux, avec cornée à cuticule, cellules à rhabdômes, et cellules pigmentaires. Il en est de même des Gigantostomacés avec Erypteris remipes.

Les Pantopodes ont aussi des yeux pour la plupart; mais les espèces abyssales en manquent. Seulement chez les Arthropodes primitifs seuls persistent les yeux frontaux.

Les Arachnides ont des yeux simples (6 à 8 éléments) reliés au cerveau par des nerfs et par les ganglions cérébroïdes.

Chez les Crustacés Euarthropodes Mandibulata qui comprennent les Entomostracés et les Malacostracés, l'oeil est composé à facettes comme chez les Insectes. Les ommatidies montrent des cellules cornéennes, cristalliniennes, à rhabdôme, et pigmentaires. Le tout est relié au cerveau par des nerfs optiques et ganglions optiques. Leur vision est analogue à celle des Insectes.

Chez les Crustacés Entomostracés assez hétérogènes, les Phyllopoètes ont des yeux rapprochés. L'oeil médian, en fer de cheval, est recouvert par les téguments chez Apus Cancriformis Schaeff. Il est pédonculé et mieux développé chez Branchipus pisciformis Schaeff.

Les Cladocères sont importants pour la vision des couleurs, c'est dans cet ordre qu'on a pu déceler, avec assez de netteté, la preuve de cette perception. Elle existe chez Daphnia pulex Leyd. dont l'oeil est frontal, impair, composé à facettes et relié au cerveau par des fibres nerveuses.

Les Copépodes sont régressés, leurs yeux sont le reliquat de ceux de la larve Nauplius dont les yeux sont déjà réunis en un organe unique. Chez les Ostracodes la régression s'accentue; l'oeil, reliquat de celui de la larve existe encore, unique, médian, composé à facettes comme chez Cypris.

Chez les Crustacés Malacostracés Leptostracés comme Nebalia bipes F., l'oeil composé est pédonculé, moins régressé, mais ventral.

Parmi les Eumalacostracés qui comprennent : les Syncaridés, Péracaridés, Hoplocaridés, Eucaridés, les yeux plus développés se rapprochent de ceux des Insectes, mais ils n'ont pas une évolution identique dans tous les groupes. L'oeil composé et pédonculé, chez les Panaspidés Syncaridé Anaspidé se développe encore chez les Péracaridés (Mysis, Diastylis, Tanaïs, Lygia etc.), il devient plus important chez les Amphipodes. On aboutit chez les Hypéridés à un oeil central impair par coalescence des deux yeux. Par contre les Gamaridés et Lémodipodes ont des yeux séparés.

L'oeil des Hoplocaridés Stomatopodes se perfectionne chez Squilla mantis L., il annonce déjà les Crustacés supérieurs.

Les Eucaridés (Malacostracés Mandibulata Euarthropodes) sont des Crustacés qui comprennent les Décapodes et les Euphosiacés, leurs yeux se perfectionnent encore.

Chez les Euphosiacés Eucaridés avec Euphosia Mulleri Claus. l'oeil complexe est entouré par un épiderme à cuticule. Le cristallin, lentille réfringente est recouvert de cellules épithéliales. En avant de la rétine se trouve un corps vitré et en arrière une couche de cellules pigmentaires. L'oeil est en outre relié au cerveau par des filets nerveux qui forment un nerf optique et des ganglions.

Chez les Décapodes Eucaridés, les yeux en particulier chez les Macroures, (Crevettes, Ecrevisses) Brachyours, Anomours etc., sont sensiblement les mêmes, plus ou moins pédonculés et développés

comme chez l'Astacus fluviatilis F., Carcinus maenas Penn de l'Eupagurus bernhardus L. etc. Ces Crustacés supérieurs ont une vision nette et perçoivent les couleurs. Leur système nerveux est aussi bien développé. C'est parmi eux que débute la vision et l'analyse des couleurs.

Chez les Insectes Trachéates supérieurs, il existe des yeux composés, capables de percevoir la lumière et les couleurs et plus ou moins perfectionnés. On commence à les apercevoir depuis les Myriapodes en passant par les Insectes Trachéates, Antennates, Aptérigotes et Ptérigotes. La différenciation des yeux composés à facettes en vue de la vision des couleurs nous amène loin de la vision humaine et elle est l'aboutissement de l'orientation des êtres Hyponeuriens, Chitinophores, Articulés, vers l'acquisition d'une substance de vision et d'un système nerveux capable de l'analyser. Chez les Crustacés inférieurs (Daphnies) la sensibilité est dichromatique d'après Koëler, ils réagissent aux grandes longueurs d'onde (rouge-orangé) par photochimisme positif. Avec les longueurs d'onde courtes (bleu, violet, ultra-violet) ils réagissent négativement. Chez les Crustacés supérieurs le perfectionnement de l'appareil visuel et nerveux a permis aux expérimentateurs d'obtenir une preuve plus nette de la perception et de la différenciation des couleurs.

Chez les Insectes, l'Abeille (Hyménoptère) est capable de distinguer toutes les couleurs (Kühne) (1879) et même des couleurs que l'Homme ne perçoit pas. Cette faculté se retrouve, d'après Ilse, chez les Papillons de nuit qui perçoivent la couleur dans la nuit, mais certains Insectes peuvent ne pas l'avoir (Rhyncotes Hémiptères). Cette perception plus précise des couleurs et de la lumière d'après les auteurs, serait due au perfectionnement de leur système nerveux et à l'acquisition de substances spécialisées. Ces substances nous paraissent être en rapport avec les nucléotides à ribose, que nous avons retrouvés histochimiquement et signalés chez l'Ecrevisse et la Crevette, la Grenouille et divers Vertébrés. L'action métabolique de ces substances actives dans la vision lumineuse et colorée, et chez les Coelomates supérieurs, traduit l'unité de la fonction visuelle de façon plus générale que la morphologie de leur appareil récepteur pouvant varier et différer par la précision ou les possibilités vis à vis des ondes excitatrices.

Les Hyponeuriens ont évolué dans une deuxième direction en vue de l'acquisition de la perception visuelle et des couleurs. Le point de départ se trouve au niveau des Annelides et va s'observer dans le groupe homogène des Mollusques, pour aboutir chez les Céphalopodes, à la vision par l'intermédiaire de cellules visuelles plus proche de celles de l'Homme.

Le laméllibranche Mya L. étudié par Hecht Selig (1920) (1940) à l'aide de la réaction du siphon, ne possède pas encore une grande différenciation, il n'a pas de possibilité de la vision des couleurs, alors que d'autres Mollusques d'eau douce la possèderaient déjà, parce qu'ils distingueraient les grandes longueurs d'onde et les courtes longueurs d'onde.

La présence d'un plus grand nombre d'yeux montre que les Mollusques évoluent avec une possibilité d'orientation vers une acquisition de vision. Ils illustrent bien le début de cette deuxième direction que nous allons examiner.

Les Mollusques possèdent en général des yeux céphaliques, pairs et symétriques, portés sur l'extrémité ou la base de tentacules. Ils peuvent manquer chez certains Amphineures, Lamellibranches adultes et Scaphopodes. En plus de ces yeux principaux, les Mollusques possèdent des yeux palléaux, sur toute la surface du manteau chez le Chiton (Liné) (Amphineure,) ou sur le bord du manteau chez les Pectens (Lamellibranche).

Chez les Amphineures Polyphacophores : Chitonides asiatiques, les yeux palléaux et dorsaux présentent une coupe rétinienne profonde, recouverte au dessus par une cornée avec des microesthètes en rapport avec les nerfs. Sous la cornée, il y a un cristallin. La cupule rétinienne contient des cellules visuelles reliées au cerveau par le nerf optique. Autour de la cupule une enveloppe pigmentée va assurer une vision plus complète. Chez les Gastéropodes Euthineures les yeux céphaliques sont symétriques, à la base de la deuxième paire de tentacules.

Chez les Opisthobranches les yeux sont enfoncés sous les téguments

Chez les Gastéropodes Streptoneures les yeux sont sur des tubercules à base des tentacules. Ils peuvent être moins, ou plus développés que les tentacules, qui d'ailleurs peuvent avorter.

Chez l'Escargot adulte (Pulmoné Stylomatophore) l'oeil est au sommet du tentacule.

Chez les Mollusques on trouve tous les degrés de développement des yeux. Les plus primitifs sont représentés par une sorte d'invagination largement ouverte à l'extérieur, avec des cellules sensibles analogues à des bâtonnets; ces cellules ne sont protégées, ni par le cristallin, ni par le corps vitré. Parfois les bords de la cavité peuvent se refermer, on a alors un cristallin qui fait

saillie dans l'eau, c'est le cas des Trochidés. Les Haliotis ont des yeux simples. Le pincement des bords de la cavité peut s'accroître et le cristallin est enfoncé. Chez les espèces plus évoluées on peut voir le cristallin recouvert par deux couches épithéliales, avec cornée externe en rapport avec l'épithélium pigmentaire et cornée interne en rapport avec la rétine. C'est le cas de la majorité des Gastéropodes. Leur rétine pigmentée peut se développer aux dépens de la cornée. Si l'œil se spécialise, la rétine se développe en rapport. La fonction visuelle chez les Gastéropodes est difficile à étudier. Certains ne voient pas la forme des objets. Les Gastéropodes terrestres perçoivent les formes à des distances proches. Si l'espèce est fouisseuse, les yeux s'enfoncent et leur volume diminue. Chez les formes abyssales privées de lumière, l'œil perd le pigment rétinien à l'état adulte. Dans les formes parasites l'œil manque le plus souvent.

Il existe en plus, chez les Gastéropodes des yeux particuliers en nombre plus ou moins grand, sur des tubercules dorsaux. Chez les Onchydiens ces yeux sont d'une structure plus perfectionnée (Onchidies). Le nerf optique traverse la rétine et il y a un renversement des cellules rétiniennes (comme chez l'Homme) cette structure est plus perfectionnée que celle des Céphalopodes, de plus ils présentent une cornée, un cristallin et une enveloppe pigmentée.

Les yeux des Lamellibranches adultes ne sont pas céphaliques, Sur le bord du manteau ils possèdent des cellules pigmentaires très sensibles à la lumière. (Tellina, Venus, Cardia). Chez Pecten et Arca les yeux sont légèrement plus développés. Chez Arca les yeux sont dans une fossette, avec un cristallin et des cellules à pigment. Chez Pecten il y a un cristallin et une véritable rétine.

Chez les Céphalopodes l'œil se rapproche de celui des Vertébrés. Il est logé dans une capsule cartilagineuse. Le nerf optique pénètre dans l'œil par un orifice postérieur où il s'épanouit en un ganglion optique. De ce ganglion partent de nombreuses ramifications pour la rétine. L'œil proprement dit est ici une cavité close divisée en deux par l'iris. Devant la chambre antérieure une cornée transparente, ou fausse cornée, est tapissée par les téguments. Le cristallin ferme la chambre antérieure en arrière de l'iris. Dans la chambre postérieure à corps vitré, la rétine possède des cellules visuelles avec des pigments. Elle est constituée surtout par des bâtonnets qui reposent sur la limitante et regardent la lumière. La membrane protectrice de l'œil ou sclérotite, se continue en arrière par la capsule cartilagineuse. L'œil possède en outre des paupières sortes de replis tégumentaires fonctionnant comme des sphincters. Les Céphalopodes sont les premiers à posséder des cellules visuelles

avec des bâtonnets véritables, bien que chez les Mollusques on puisse voir des cellules sensibles analogues à celle des bâtonnets.

Les yeux les plus primitifs de ce groupe se trouvent : chez les Nautilus (Tétrabranchiaux) dont la cavité optique est ouverte, et sans appareil réfringent. Chez les Dibranchiaux l'oeil se perfectionne, avec une capsule optique, une chambre antérieure et une rétine retournée, reliée à un ganglion optique. Chez les Calmars du Pacifique il existe une rétine avec une bonne vision. Wald et St-Georges (1941) et Bliss (1948) ont pu retirer de leur rétine un pigment sensible la céphalopsine (maximum d'absorption $\lambda = 490 \text{ m } \mu$) qui renferme de la vitamine A I. En général les Céphalopodes possèdent une bonne vision des couleurs. Kühne et Frölich, en 1914, avec la méthode des courants d'action ont pu montrer qu'ils étaient sensibles au rouge, jaune, vert et bleu.

Dans l'ensemble, les Hyponeuriens dans la deuxième direction de développement sont arrivés à la perception lumineuse et colorée avec une rétine à cellules visuelles analogue à celle de l'Homme avec des bâtonnets. La rétine d'abord directe, se renverse comme chez l'Homme en particulier chez certains Céphalopodes et Mollusques (Onchidiens). Le perfectionnement de l'appareil de vision des Hyponeuriens tend donc à se rapprocher de celui de l'Homme et des Epineuriens.

Examinons maintenant la même évolution chez les Epineuriens.

Les Coelomates Epineuriens sont moins riches en clades. Ils comprennent les Echinodermes, les Chordés, (les Stomochordés, les Urochordés ou Tuniciers, les Céphalochordés et tous les Vertébrés).

L'appareil photorécepteur des Epineuriens les plus primitifs est représenté déjà chez les Echinodermes (les Stellérides). L'oeil près de l'extrémité ventrale de chaque bras, est signalé par une tache rouge ou tache oculaire. Il est représenté par un ocelle formé par la réunion de nombreux petits yeux à structure très simple. L'ocelle est toujours tourné vers la lumière et le bras des Stelléridés est toujours levé à son extrémité : cette formation oculaire est liée à leur vie de surface.

Chez les Chordés on trouve tout une série d'animaux qui font suite aux Echinodermes. Du fait de leur vie aquatique et de fousisseurs, les Stomochordés (comme les Enteropneustes, les Gratoïdes) n'ont pas de photorécepteurs, tandis que les Ptérobranches avec (Céphalodiscus) ont un oeil rudimentaire à l'extrémité des bras tentaculaires.

Les Prochordés ou Urochordés ou Tuniciers primitifs (comme les Appendiculaires) ne semblent pas posséder de vision. Par contre, chez les Thaliacés ou Salpes, on rencontre un oeil mieux développé, en forme de fer à cheval, sous la forme d'un bourrelet placé sur le ganglion nerveux. Dans l'oeil de Thalia democratica Forsk, on peut distinguer, vers l'extérieur, une couche de cellules pigmentaires et vers l'intérieur, une couche de cellules à bâtonnets avec des cellules ganglionnaires. Les yeux s'observent dans la forme solitaire ou oozoïte et aussi dans le blastozoïte.

Si les Doliolidés ne semblent pas posséder des organes photorécepteurs Pyrosoma élégans Les, Pyrosomidé Colonial présente un oeil annexé à un ganglion nerveux du côté dorsal de structure analogue à celle des Salpes. L'oeil en fer à cheval se trouve à la face ventrale du cerveau avec une rétine à bâtonnets. Les Ascidiacés avec Ciona intestinalis Rupf. présentent un oeil rudimentaire dans le stade larvaire, à la partie antérieure du tube nerveux et régressant lors de la fixation de la larve.

Les Céphalochordés présentent avec l'Amphioxus, Branchiostoma lanceolatus Costa un oeil cérébral qui correspond à une tache pigmentaire. Visibles à partir du troisième myomère, des organes photorécepteurs du type organe de Hesse sont disposés le long du canal de l'épendyme. Cet organe sensible à la lumière se compose d'une cellule supérieure riche en pigments, et d'une cellule inférieure sensitive.

Cette revue des organes photorécepteurs des Epineuriens primitifs montre qu'ils ont une structure assez simple. La seule amélioration acquise est la présence de cellules sensibles analogues à des bâtonnets observées chez les Prochordés, Thaliacés, Pyrosomidés.

L'Amphioxus, Céphalochordé, fait transition avec les Vertébrés par l'intermédiaire des Poissons inférieurs comme les Agnatae (Cyclostome et Lamproie). Son appareil photorécepteur ne s'est pas bien développé par suite de l'absence de la formation du crâne et du cerveau. Cette régression observée chez l'Amphioxus se retrouvera chez les Poissons inférieurs.

Chez les Poissons primitifs comme les Cyclostomes, les yeux

encore rudimentaires sont constitués par de simples cupules optiques dépourvues de cavité interne. Le feuillet externe est pigmenté. La rétine forme le feuillet interne et le corps vitré repose au fond de la cupule.

Chez la Lamproie l'oeil présente la même structure. Sa larve Ammocète présente un oeil caché sous la peau, avec un cristallin sans iris. La rétine est contre un corps vitré bien constitué. Autour de la rétine on trouve des cellules pigmentaires. L'iris et la chambre antérieure n'apparaissent qu'à l'état adulte.

Chez les Poissons Téléostéens l'oeil aplati, à cristallin sphérique, est fait pour la vision des objets rapprochés. Il accomode pour voir plus loin. La rétine des Poissons Téléostéens est souvent semblable à celle des Vertébrés supérieurs, mais certains Poissons n'ont que des cônes (*Brême*, *Muge*), d'autres ont des bâtonnets longs et fins et des cônes assez grands (*Percha fluviatilis* L., *Leuciscus vulgaris* C.V.) D'autres n'ont que des bâtonnets, c'est le cas des Poissons des grandes profondeurs (*Bathylagus benedicti* possède jusqu'à trois couches de bâtonnets). Dans l'ensemble beaucoup de Poissons possèdent une rétine mixte, souvent leurs cônes sont de grande taille et en général sans gouttelettes huileuses.

Nous avons observé chez *Crenilabrus melops* L. à côté de bâtonnets de petite dimension ($18 \text{ m } \mu$) des cônes qui peuvent atteindre 120 à $130 \text{ m } \mu$. Mais chez le Lebiste ("Guppy"), le Vairon, la différence est moins accusée.

Chez les Batraciens (Apodes, Urodèles et surtout Anoures) la rétine mixte a des bâtonnets beaucoup plus grands que les cônes dont certains possèdent des gouttelettes huileuses. Les yeux de Grenouille ont servi de matériel d'étude à de nombreux travaux morphologiques, chimiques et histochimiques de préférence à ceux des Crapauds qui sont souvent très pigmentés et dont la rétine n'a presque exclusivement que des bâtonnets. Les yeux de Grenouille seront décrits plus en détail dans la quatrième partie de notre travail, nous pouvons signaler qu'on peut y distinguer deux types de bâtonnets et quatre types de cônes différant par leur taille et leur forme.

Chez les Sauropsidés les yeux sont souvent globuleux, avec un peigne, sauf chez la Tortue. Leur sclérotite est souvent ossifiée. Leurs rétines particulières sont assez recherchées par les histologistes et physiologistes; les Chéloniens : Tortues, Lézards, Serpents,

ont des rétines à cônes et les Geckos et Crocodiles (Sauriens) ont seulement des bâtonnets. Le Cobra, la Couleuvre, l'Orvet, la Salamandre, la Tortue ont servi pour l'étude de l'acuité visuelle, de la discrimination des couleurs etc. et pour l'étude chimique de leurs pigments. L'oeil des Sauropsidés présente la particularité de posséder des gouttelettes huileuses comme celui des Oiseaux.

L'oeil des Oiseaux ne peut tourner dans l'orbite et se défendre contre les rayons lumineux venant de certaines directions, il existe un peigne qui protège la rétine. Le cristallin est presque sphérique et la sclérotite partiellement ossifiée. La rétine contient beaucoup de cônes et peu de bâtonnets, en proportion variable selon les espèces. Les Oiseaux diurnes possèdent beaucoup plus de cônes que les Oiseaux nocturnes. Les cônes possèdent de nombreuses gouttelettes huileuses colorées qui forment chez le Pigeon, une zone colorée "le champ rouge", dans le fond de l'oeil, Chez la Tourterelle, le Faucon et le Poulet des gouttelettes seraient jaune ou orangé et leur "champ jaune" est moins étendu. Les cônes sont polymorphes, Cajal (1893) en signale deux espèces chez le Moineau, et des cônes plus gros chez des Gallinacés possédant souvent des cônes jumeaux.

Chez les Mammifères et chez l'Homme, la rétine est en général mixte avec prédominance des bâtonnets. Elle est analogue à celle des Poissons Téléostéens et Oiseaux nocturnes, elle s'éloigne de celle des Reptiles.

Les bâtonnets sont longs : chez le Rat, le Chat, plus épais chez le Porc. Les cônes sont petits chez les Rongeurs et assez rudimentaires chez le Lapin. L'étude des cônes des Mammifères est assez délicate car les éléments sont petits et cachés par les bâtonnets et les pigments. La macula de l'homme possède exclusivement des cônes assez grêles. Dans la rétine il peut y avoir différents types de cônes selon les régions. D'après Policard (1950) il y en aurait quatre. Polyak (1949) pense qu'il n'existerait chez les Mammifères, les Primates et l'Homme, qu'une seule structure uniforme et fonctionnelle. Wilmer (1955) a décrit cependant dans la rétine humaine des cônes nettement plus grands et moins fortement colorés que les autres. Devant les affirmations contraires, la question des variétés de cônes de la rétine humaine serait à réexaminer.

On sait que la rétine chez l'Homme, les Mammifères Primates, est proche de celle des Oiseaux nocturnes et des Poissons téléostéens. Nous avons étudié les cônes de ces derniers. L'examen de ces rétines

en particulier chez le "Guppy" Lebistes reticulatus L. Crenilabrus
melops, L. Labrus viridis L, nous a montré indiscutablement quatre
types de cônes différant par leur forme et leur taille, il en est
de même des Grenouilles. Le polymorphisme des cônes existe également
chez les Oiseaux, et les Mammifères, il doit en être de même chez
l'Homme. D'ailleurs nous avons relevé des indices de polymorphisme
avec différents types de cônes, nous y reviendrons plus loin.

II - Evolution de l'appareil de la vision en vue de l'acquisition

d'une perception des couleurs.-

Au cours de notre longue étude, nous avons vu que l'appareil de la vision a évolué dans un même sens, chez les Hypo et Epi-neuriens pour l'acquisition d'une perception fine et colorée par les cônes et bâtonnets.

Au niveau des Annélides, les organes photorécepteurs des Hyponeuriens ont subi une différenciation très poussée et très particulière en vue de la perception lumineuse et colorée. Chez les Arthropodes, en particulier les Crustacés, cette vision des couleurs est bien développée. Les premiers indices de la vision des couleurs : pour les lumières de courtes et de grandes longueurs d'onde ont été trouvés chez (Daphnia pulex Leyd). Elle a été mieux étudiée par la suite, chez les Crustacés supérieurs.

La vision des couleurs est très développée chez les Insectes, spécialement chez les Abeilles et Papillons. Ils peuvent distinguer dans le spectre visible, et même en dehors de celui-ci, des couleurs que l'Homme ne peut discerner, même la nuit. Cette fonction visuelle colorée serait due, selon les anciens auteurs et Trincker (1954) à l'acquisition de substances photosensibles, d'un système nerveux apte à les analyser, et aussi, pensons-nous, d'un appareil photorécepteur particulier avec des yeux composés à facettes et des cellules sensorielles spéciales : les cellules à rhabdome.

Cette perception des couleurs très nuancée et riche, s'éloigne beaucoup de celle de l'Homme, et nous la laisserons de côté. Signalons toutefois que nous avons retrouvé chez les Crustacés une des substances actives de la vision existant chez les Vertébrés.

Ceci renforce l'idée de l'acquisition de substances essentielles pour la vision des lumières et des couleurs, et c'est la présence de cette substance dans les deux sortes de visions qui permet d'entrevoir la liaison des deux mécanismes.

Examinons maintenant l'acquisition de la vision colorée par les animaux possédant des bâtonnets et des cônes. Au niveau des Coelomates Hyponeuriens : cette acquisition débiterait chez les Mollusques. Les travaux de Hecht Selig (1918-1920) montrent que le lamellibranche Mya L. n'a pas encore cette différenciation, mais d'autres Mollusques d'eau douce peuvent distinguer les grandes et les courtes longueurs d'onde.

Selon Graber (1884) les Limaces sont plus sensibles à la lumière bleue qu'à la rouge. La Pholade (Pholas dactylus L.) selon Dubois (1892) serait sensible à toutes les couleurs comme l'Homme, mais ces déterminations ne sont pas encore très sûres car la réaction du siphon peut ne pas être spécifique. Les travaux de Carl Hess (1889) ont montré que ces observations sont partiellement vérifiées. La rétraction du siphon se fait bien pour la lumière verte où elle est maxima, et moins forte pour la jaune. Pour les couleurs bleu et jaune, la rétraction n'est même pas la moitié de la réaction obtenue avec la lumière vert-jaune (lumière qui excite surtout les cellules sensorielles de type primitif, que nous verrons plus loin). Il y a un dommage qu'on n'ait pas fait des expériences chez les Onchidiens dont la rétine présente un assez haut degré de perfectionnement, étant constituée et renversée comme celle de l'Homme.

Chez les Céphalopodes, la vision des couleurs manque chez quelques espèces. Les Calmars (Loligo vulgaris Lk.), la Seiche (Sepia officinalis L.) l'Elédone (Eledon moschata Leach) seraient peu sensibles aux lumières colorées. Cependant la mesure pupilloscopique a montré chez eux, que la pupille réagit très peu dans le rouge, davantage dans le jaune-vert. Dans le bleu elle se rétrécit plus que dans l'orangé, et dans le vert plus que dans le rouge. Les valeurs sont, en gros, plus grandes dans le bleu que dans le rouge. Trincker (1954) s'appuyant sur les travaux de Kühne et Frölich (1914) qui ont obtenu pour les différentes longueurs d'onde rouge, jaune, vert et bleu, différentes fréquences du courant d'action, rapporte que les Céphalopodes ont une sensibilité très bonne pour les couleurs. Il signale également que Hamilton (1922) a obtenu aussi certain résultat sur la vision des couleurs chez les Céphalopodes en utilisant la fatigue spécifique des photorécepteurs par des lumières de différentes longueurs d'onde.

Dans l'embranchement des Coelomates Epineuriens, les recherches sur la vision colorée manquent chez les espèces primitives. Les premiers signes de vision colorée sont observés chez les Vertébrés inférieurs où les études ont été plus nombreuses.

Le sens de la couleur a été analysé chez les Poissons par Von Frisch (1912) ainsi que par Kühne en (1914) avec des preuves sûres. Ils avaient utilisé les moyens de dressage, les reflexes conditionnés et aussi la méthode de réaction optomotrice de Van Buddenbrock en se servant de cylindres ornés de bandes grises alternant avec des bandes colorées. La réaction d'orientation n'est déclanchée, que si ces couleurs peuvent être perçues.

En 1925, Wolf, un élève de Kühne, a pu dresser des Vairons à distinguer les couleurs en utilisant le reflexe rétinomoteur. Les Vairons, rapporte Trincker, purent discerner 24 sortes de couleurs.

Von Frisch a pu démontrer que le dressage pour la distinction des couleurs n'est valable que si les cônes étaient convenablement impressionnés. Lorsque l'on éclaire pour exciter seulement les bâtonnets, le phénomène rétinomoteur manque.

Ovio (1927) pour qui les Poissons sont aveugles aux couleurs, signale cependant les travaux de Von Frisch, et ceux de Hess (1909) sur le comportement des Poissons vis à vis des lumières colorées. Des Poissons dit-il sont gardés longtemps à l'obscurité dans un aquarium, lorsqu'on éclaire cet aquarium, moitié avec une lumière rouge et moitié avec une lumière bleue d'égale clarté avec un double tube, les Poissons sont répartis dans tous les points de l'aquarium. Si les Poissons sont préalablement éclairés pendant longtemps, puis placés dans les mêmes conditions d'éclairage colorés, ils se rassemblent tous dans le rouge. Pour qu'ils se rassemblent tous uniformément dans les deux parties, il faut augmenter six à huit fois l'intensité de la lumière bleue.

"Cette conduite des Poissons" dit Ovio qui varie suivant l'intensité de l'éclairement et qui est due évidemment à l'intervention du pigment rétinien, semblerait prouver l'existence du phénomène de Purkinje ; et ce serait étrange dit-il puisqu'une des caractéristiques de la cécité totale pour les couleurs est justement, comme je l'ai indiqué l'absence de ce phénomène", et il conclut qu'il ne s'agirait pas là d'un véritable phénomène de Purkinje et rejette alors la perception colorée chez les Poissons pour diverses raisons.

Trincker (1954) n'est pas de cet avis. Le Poisson est de loin supérieur à tous les Invertébrés, quant à la distinction des couleurs et des mélanges de couleurs.

Pour notre part, nous avons étudié la rétine des Poissons avec les lumières colorées, nous trouvons que la perception des couleurs existe chez eux. Il en est de même pour les Amphibiens.

Les recherches pour la vision des couleurs chez les Amphibiens faites par Kühne (1877) signalaient que le vert attire plus que le rouge. Torelle (1903) aurait trouvé le même résultat tandis que Graber (1884) et Loeb (1890) avaient obtenu des résultats opposés. C. Hess (1889) trouva chez les Crapauds un spectre visible à peu près étendu comme celui de l'Homme avec un point de la plus grande clarté identique dans le vert-jaune et dans le vert pour l'oeil adapté à l'obscurité.

Des recherches faites par G. Birukow (1949) sur l'acuité visuelle par la méthode optomotrice chez la Grenouille verte, lui ont permis de faire une analyse de la vision colorée au cours du développement larvaire. Cet auteur a examiné le Têtard à différents stades de développement jusqu'à la métamorphose. Dans les premiers états larvaires il ne put trouver qu'une courbe de la vision par les cônes pour toutes les intensités lumineuses. Le phénomène de Purkinje manque complètement, alors qu'il existe de façon indiscutable chez l'adulte avec un maximum dans le jaune pour la vision diurne, et dans le jaune-vert pour la vision crépusculaire. Les bâtonnets, qu'il pensait être les éléments primordiaux et primitifs selon les connaissances classiques manquent, il ne put trouver qu'une réponse de cône. Par la suite il observa que la vision des têtards plus âgés se rapprochait progressivement de la courbe de vision crépusculaire des Grenouilles adultes. Cette transformation se faisait en différents temps, dans la zone moyenne du spectre et dans les zones des grandes et petites longueurs d'onde. Birukow d'après ces résultats conclut qu'il devrait y avoir trois sortes de bâtonnets, qui atteignent la maturation les uns après les autres. L'adaptation aux valeurs définitives se produit d'abord dans la zone du jaune et du vert, puis dans le rouge et enfin dans le bleu.

L'examen histologique correspondant a montré, que chez le têtard les cellules visuelles avaient une origine commune : un cône primitif. Alors que les cônes atteignent assez vite leur morphologie définitive la différenciation des bâtonnets dure jusqu'à la métamorphose.

L'étude de la différenciation des couleurs par la méthode optomotrice dans le stade des cônes morphologiquement développés lui a montré que les larves n'ont qu'une courbe typique de vision diurne (maximum dans le jaune) sans aucune différenciation des couleurs. La vision du bleu n'apparaît qu'au moment du développement des pattes postérieures, celle du rouge après le développement de l'extrémité de ces dernières.

Malgré l'avance du développement des cônes, les larves n'ont le sens de la couleur que postérieurement, avec la fonction des bâtonnets.

Birukow explique ce comportement par la maturation chronologique de l'appareil nerveux associé. L'appareil nerveux pour la vision du rouge apparaît comme le plus jeune et se trouve plus fragile, ce qui est visible au cours des atteintes de la vision par les troubles nerveux.

Les résultats de Birukow montrent que les cônes de la Grenouille en vision photopique, différencient d'abord la lumière jaune, puis bleue et enfin rouge. Les bâtonnets perçoivent aussi les couleurs dans l'ordre suivant : jaune, vert, rouge et bleu. Dans le début de la vie larvaire, la vision du têtard est une vision du cône primitif, sans phénomène de Purkinje.

Dans nos premiers résultats (1951-1955) sur la Grenouille, nous nous étions déjà rendu compte que cônes et bâtonnets sont sensibles à la lumière de façon différente. Nous avons observé deux types de bâtonnets : l'un classique, l'autre de type "massue", ainsi que quatre types de cônes.

En voulant vérifier les résultats de Segal montrant l'activité de la lumière bleue sur l'orangé transitoire, nous avons remarqué qu'elle était légèrement active sur les bâtonnets. Elle était plus forte : 1°/ lorsque la lumière bleue est vive, 2°/ lorsque la rétine est éclairée d'abord rapidement avec une lumière blanche suivie de l'éclairage bleu, ou 3°/ lorsqu'on éclaire simultanément avec une lumière bleue intense et une petite lumière blanche. On observe dans ces conditions un pâlissement et une décoloration des bâtonnets selon la durée de l'éclairement. La sensibilité des bâtonnets à la lumière bleue, bien que nette avec la durée, est moins caractéristique que celle présentée par les cônes de grande dimension du type I, résistant à la lumière blanche dans les conditions où les bâtonnets ont déjà montré leur sensibilité. Cette action de la lumière bleue sur les cônes et surtout ceux du type I, nous a suggéré que les cônes résistent à la lumière blanche étaient sensibles aux couleurs, c'est ce qui nous a poussé à faire l'étude de la réponse des cônes avec les lumières colorées, nous l'exposerons plus loin.

Chez les Reptiles, Studnitz (1940-1941) a pu déceler, chez le Cobra, la Couleuvre, la vision des couleurs.

Birukow (1949) a signalé que l'Orvet et la Salamandre différencient le rouge, le jaune, le vert et le bleu. Chez la Tortue, Wojtasiak (1932) a pu déceler une vision des couleurs moins riche que chez les Poissons, mais la Tortue discriminerait le rouge et le bleu-violet de façon plus fine. Casteel montre, en plus, que l'acuité visuelle des Tortues serait très proche de celle de l'Homme.

D'après les recherches de Carl Hess (1889) les Tortues sont capables de différencier les couleurs à peu près comme les Oiseaux diurnes, mais avec une moins grande sûreté.

Les Crocodiles aussi auraient des possibilités semblables à celles de l'Homme : même maximum de clarté dans le jaune ou jaune-vert et valeurs identiques dans les autres couleurs.

Les Oiseaux auraient une bonne vision des couleurs mais il existe une différence selon qu'ils sont diurnes ou nocturnes. Les Oiseaux nocturnes perçoivent le rouge comme l'Homme à l'extrémité du spectre, ils seraient plus limités du côté du bleu, cependant ils y sont plus sensibles que les Oiseaux diurnes, à cause de leurs substances huileuses. Les Oiseaux diurnes par contre sont plus sensibles au rouge.

Henning (1897) montre que les Pigeons voyageurs, lorsqu'ils portent des lunettes bleues ont beaucoup de difficulté pour revenir à leur point de départ. Hess (1889) a montré chez eux en faisant des mesures pupilloscopiques, que les valeurs motrices les plus proches de celles de l'Homme sont dans le rouge et le jaune. Dans le vert et le bleu ces valeurs sont beaucoup plus faibles.

Les expériences de M.-L. Verrier 1945, chez le Poulet, le Pigeon, la Tourterelle, le Faucon, les mesures de Donner (1953) avec la méthode de Dressur, chez le Pigeon, ainsi que les observations de Lashley (1916) chez le coq vont aussi dans le même sens, et confirment leur grande sensibilité pour le rouge et le jaune plus que pour le vert et le bleu.

Chez les Vertébrés, Mammifères et l'Homme, on a pu étudier le sens chromatique par des méthodes de dressage, divers reflexes conditionnés, et mesures pupilloscopiques.

Des travaux de Sachs et Abelsdorff (1907) ont montré que le Chat présente une motricité pupillaire plus grande pour le bleu

que pour le rouge. Orbéti (1907) signale que le Chien dressé à manger la nourriture sur des tablettes colorées distingue le rouge, son observation est basée sur le reflexe de la salivation.

Des expériences analogues de Hess (1927) basées sur le dressage des animaux à prendre les nourritures diversement éclairées montrent que Singes, Chats, Chiens, Lapins se comportent à peu près comme l'Homme à l'égard des couleurs. Elles ont été confirmées par des mesures pupilloscopiques en particulier chez le Singe. Chez les autres animaux les valeurs sont moins élevées. Les animaux perçoivent bien les couleurs selon Hess, mais plus mêlées de blanc que l'Homme.

Otto Kalischer en 1909, a pu dresser des Chiens à prendre leur nourriture avec un éclairage coloré. Il a pu démontrer que le Chien percevait les couleurs : rouge, bleu, vert, même avec des gradations diverses, mais pour la reconnaissance des couleurs intermédiaires le Chien était surtout gêné dans le vert.

L'auteur ayant ensuite détruit les centres visuels corticaux, les animaux ne purent alors distinguer les différentes couleurs. De ces expériences il conclut que les centres corticaux participent surtout à la perception chromatique, tandis que les centres sous-corticaux peuvent encore leur permettre les perceptions de clarté.

Chez les Primates la vision des couleurs très souvent concorde avec celle de l'Homme. La différenciation des couleurs du spectre chez les Singes supérieurs est presque identique.

Chez l'Homme le développement des cellules visuelles en vue de l'acquisition de la sensibilité à la lumière rappelle celui de bien des yeux de Vertébrés. L'évolution ontogénique de la rétine humaine est dans une certaine mesure semblable à celle de la Grenouille, de même l'acquisition des sensations lumineuses et colorées.

Déjean, Leplat, Hervouët (1958) signalent que les cellules visuelles de l'Homme ont pour origine commune une ébauche de cône primitif visible au troisième mois au niveau de la limitante externe sous la forme d'excroissance large, en rapport avec les grains externes. Au quatrième mois le futur cône primitif s'allonge et présente une pointe courte. Au cinquième mois à la partie externe de ces formations apparaissent deux corpuscules sombres centrosomiens. Vers la fin du cinquième mois l'un des centrosomes s'éloigne de

l'autre et va donner naissance à un filament fin, très court, qui est l'origine de l'article externe (Leboucq (1909) Seefelder (1908) Magitot (1910). Leboucq donne une grande importance à ce fait biologique qu'il met en parallèle avec le développement du spermatozoïde, dont le filament axile d'origine centrosomique serait l'homologue de l'article externe des cellules visuelles.

Ouvrons une parenthèse ici, pour rappeler nos travaux histo-chimiques sur la tête du spermatozoïde qui possède des nucléotides à ribose, favorisant leur mouvement et nos travaux plus récents relatés au début de ce travail sur le rapport des spermatozoïdes et des cellules visuelles ou des substances nucléotidiques communes sont assez spécifiquement localisées alors qu'elles manquent dans les autres organes. Ces substances nucléotidiques ont présenté de façon identique lors de l'action des anti-ferments de la glycolyse (bromoacétate, iodoacétate), une dégénération spécifique, tant des spermatozoïdes que des cellules sensorielles; ce qui traduirait leur parenté de métabolisme en rapport avec les ferments nucléotidiques, et avec la fonction de ces substances. L'effet de l'A.T.P. (nucléotide à ribose) contribue à la contraction active du flagellum tout comme la contraction musculaire. Les nucléotides à ribose selon une hypothèse que nous formulons ici doivent favoriser le mécanisme de la vision au niveau du segment externe des cellules visuelles, suivant un processus chimique analogue, c'est à dire en produisant un influx d'origine photochimique. Ce mécanisme de la vision, avec participation des nucléotides subit au cours du cycle génital le balancement que nous avons signalé dans le début de notre travail. Ce balancement distingue cette relation optogénitale des autres réflexes (réflexe optosexuel décrit par R. Collin, et du réflexe opto-hypothalamopituitaire de J. Benoit) qui vont dans le même sens.

L'analogie rétinienne et génitale relevée par Leboucq a l'intérêt de montrer encore sous un angle différent (structural et cytologique) cette relation grâce à un mécanisme de développement embryonnaire en rapport avec les centrosomes.

C'est à partir de la fin du cinquième mois et du début du sixième que l'article externe du cône primitif s'accroît; autour du filament centrosomien se condense une substance mitochondriale assez homogène. Cette transformation dans le pôle postérieur du cône doit être logiquement en rapport avec l'apparition du réflexe photomoteur observé vers cette période chez le prématuré par Bach en 1908. L'existence de ce réflexe a été confirmée, il a été décrit avec beaucoup de soins l'année suivante par Magitot, après de nom-

breuses recherches chez les prématurés. Ce reflexe n'a été bien observé, que sur le prématuré de six mois, et ce dernier au cours de cet examen a témoigné sa sensibilité rétinienne en "révulsant son oeil en haut et en vagissant". Un filament, seul, bien que très petit et existant dès le début du cinquième mois, alors que le reflexe photomoteur est encore absent serait donc l'origine de la chemise protoplasmique différenciée qui prépare la mise en route de cette première fonction physiologique de l'oeil foetal. Déjean et ses collaborateurs pensent que cette existence du reflexe photomoteur doit coïncider avec une myélinisation des fibres optiques.

Au septième mois les cônes se développent, les premiers bâtonnets apparaissent dans la zone centrale de la rétine: ils s'insinuent entre les cônes, auxquels ils ressemblent à cette période de début.

Ils traversent ensuite la limitante et présentent un fil étroit qui se détache et donnera le segment externe.

Au cours de huitième et neuvième mois les cônes se perfectionnent, le développement des bâtonnets se poursuit; dans le dernier mois les éléments visuels plus différenciés n'ont encore que le tiers des dimensions des éléments de l'adulte.

Le développement postnatal montre au premier et deuxième mois, que les cônes sont devenus plus nombreux et plus fins par diminution de leur diamètre, et leurs noyaux dans la couche des grains externes s'ordonnent en rapport. Les bâtonnets vont s'accroître et se mêler aux cônes.

Cette étude de l'origine des cellules visuelles montre l'antériorité du cône et l'apparition de sa fonction physiologique que l'on situe au sixième mois de la vie foetale. Elle est à rapprocher des observations de Birukow chez les têtards de Grenouille: les cônes humains sont aussi antérieurs et leur fonction aussi existe avant que les bâtonnets ne se forment.

Des études complémentaires sur la physiologie des cellules rétiniennes vis à vis de la lumière et des couleurs chez l'Homme, ont été apportées par un certain nombre d'auteurs et par Trincker (1954) grâce à l'étude des réponses des prématurés et des jeunes nourrissons.

Les études physiologiques chez l'Homme ont été abordées à

l'aide des méthodes de l'optique physiologique et des reflexes conditionnés. Ces derniers sont d'ailleurs difficilement applicables à l'Homme, parce que, lorsqu'on peut les appliquer, la vision colorée existe déjà.

Trincker rapporte que Rählmann en 1903, fit des essais avec des bouteilles de lait colorées chez les jeunes enfants. Au début du sixième mois, lorsque le nourrisson est à même de saisir, il est capable de distinguer la bouteille rouge toujours remplie, de la bouteille verte vide.

Krasnogorski (1913) recueille des résultats analogues sur des enfants de cinq mois.

Kassatkin, chez le jeune enfant a trouvé que les réponses aux excitations sensorielles pouvaient être recueillies avec régularité au cours du deuxième mois, mais que, pour les signaux optiques colorés, il fallait attendre la fin du deuxième et du troisième mois. A partir du quatrième et du cinquième mois la différenciation des deux couleurs: rouge et bleu, ou jaune et vert est possible.

De nombreux auteurs anciens avaient nié une sensibilité pour les couleurs chez le nourrisson et avaient cru que celle-ci n'existait pas avant la troisième, quatrième et même la cinquième année. Pour Trincker la dénomination des couleurs demande un certain degré d'abstraction, et c'est pour cette raison que la perception des images colorées peut déjà exister, même si le nom des couleurs est encore confondu.

Des recherches utilisant les tendances spontanées, ou la durée du regard pour des cartes différemment colorées, ont permis à Stirnimann de trouver que le temps le plus long s'observe pour le bleu, puis le vert, le rouge, le blanc et le jaune. Il crut avoir démontré avec cette méthode la vision colorée du nourrisson.

Les méthodes de mesure de la valeur pupillomotrice avec les différentes lumières spectrales, ont été utilisées par De Rudder (1926-1927). Il ne put appliquer cette méthode chez l'enfant qu'à partir du sixième mois.

De nombreux essais de A. Peiper, rapporte Trincker, utilisant la méthode de dressage des Singes chez des jeunes enfants, ont permis

de voir qu'ils distinguaient sûrement, le rouge, le vert, le jaune le bleu de toutes les intensités de gris.

Trendelenburg avec le procédé des tâches colorées, a retrouvé ces mêmes résultats dans la troisième année, mais plus tardivement avec les échelles de Stilling.

Un progrès a été obtenu avec l'utilisation du réflexe des yeux en fonction du mouvement de la tête sur le cou, décrit par A. Peiper. Si on éclaire subitement les yeux de l'enfant, il rejette par saccades sa tête en arrière. Cette réaction d'opistotonos peut être retrouvée chez tous les nouveaux-nés à terme ou prématurés. Il est analogue à celui que Magitot a utilisé en 1909 pour le prématuré cité plus haut.

Avec cette méthode, Peiper a essayé d'obtenir des seuils d'excitabilité pour les lumières colorées : rouge, jaune, vert et bleu. Les différences de sensibilité relatives à l'adaptation pour la lumière ou pour l'obscurité, ont été très nettes, et Peiper les considéra comme une preuve de l'existence du phénomène de Purkinje, qui existe déjà chez le nouveau-né. La comparaison des résultats des courbes de l'adulte et du nourrisson, montre que les valeurs d'adaptation à la lumière chez les deux sont plus concordantes que pour les valeurs d'adaptation à l'obscurité; ici les valeurs d'adaptation du nouveau-né correspondent à celles de l'adulte pour le rouge et le jaune, il n'en est pas de même pour le bleu et le vert.

Du fait de cette différence, Trincker a essayé de voir s'il n'existe pas chez l'enfant un processus de développement postnatal de la fonction des bâtonnets. Il utilisa le réflexe oculaire de Peiper et détermina les seuils et les intensités lumineuses pour l'adaptation diurne et nocturne avec la même gamme de couleurs que Birukow : rouge (680-645 m μ), jaune-orangé (585-660), jaune-vert (560-550), vert-bleu (500-465) et bleu (465-430 m μ).

Les résultats de Trincker (1954) avec les prématurés ont été conformes à ceux de Birukow avec la Grenouille. Les cônes, à tous les degrés d'évolution, donnent des valeurs correspondantes à celles de l'adulte. Les bâtonnets n'acquièrent les valeurs analogues à celles de l'adulte que plus tardivement (dix semaines et plus). Les valeurs pour l'adaptation à la lumière sont semblables dès le début. Les valeurs pour l'adaptation à l'obscurité sont obtenues,

d'abord pour les couleurs centrales du spectre dans le jaune et jaune-vert, ensuite pour le rouge et en dernier lieu pour le bleu.

En accord avec Birukow, Trincker conclut à l'existence de trois types de bâtonnets fonctionnellement différents.

En vision photopique Trincker a trouvé que dans les deux premières semaines de l'existence il n'y a pas encore de différenciation des couleurs, par la suite c'est la sensation du bleu qui apparaît la première, ensuite celle du rouge et celle du jaune. La perception du vert est possible vers la fin du deuxième mois.

Cette longue revue du développement et de l'évolution de l'appareil visuel des Coelomates hypo et épineuriens et de l'Homme montre que pour arriver à son perfectionnement et à l'acquisition de sa fonction différenciée pour la perception des lumières et des couleurs, l'organe visuel a dû se dégager tout d'abord de la sensation dermo-optique protoplasmique. Les Coelomates, de ce fait, ont acquis un pouvoir d'orientation pour aller à la recherche, à travers les êtres vivants invertébrés, d'un sens nouveau qui lui permettra de s'affranchir de la vision primitive très sensible à des clartés mais sans perception de forme bien précise.

Les premiers signes de perfectionnement s'annoncent avec l'acquisition d'un système optique indépendant du milieu extérieur. Ils s'observent déjà chez quelques Vers, Mollusques et Annelides. Puis viennent l'acquisition de nouvelles substances photochimiques ainsi que d'un appareil nerveux pour analyser les nouvelles sensations.

Dans cette progression, les Hyponeuriens ont évolué dans deux sens. L'un pour aboutir, après de longues recherches assez erratiques à l'acquisition d'une vision plus précise et où la vision colorée semble n'avoir pas très bien abouti, bien que le système optique chez les Cephalopodes et les Onchidiens soit déjà assez bien différencié morphologiquement.

L'autre, en partant des Annelides, en passant par les Crustacés possède les premiers signes de sensations colorées, qui apparaissent, s'organisent, se développent, se perfectionnent pour arriver à une perception de netteté, de lumière et de couleurs très poussée au niveau des Insectes.

Les Epineuriens, depuis les Echinodermes, en passant par les Chordés, les Vertébrés, Mammifères et l'Homme, se sont dirigés plus

directement vers un développement plus homogène de leur appareil de vision avec une rétine dont les cellules sensorielles aboutissent à des cônes et des bâtonnets. Ils ont acquis aussi des substances sensibles leur permettant de distinguer les formes, les lumières et les couleurs. Cette acquisition va de pair avec celle d'un système nerveux analyseur, et la perception réelle des couleurs semble être présente déjà chez les Poissons.

Des preuves physiologiques assez nombreuses ont été accumulées, des théories proposées : théorie de la dualité, théorie trichromatique de Young-Helmholtz, théorie de Hecht, des études bio-chimiques ont été faites, cependant il n'existe pas encore de preuve morphologique, physiologique et chimique directes pour expliquer le mécanisme de la vision des lumières et des couleurs. Nous avons essayé d'apporter une contribution à l'aide des moyens directs de l'histochimie associés à des expériences physiologiques.

B - Recherches histochimiques préliminaires à l'aide des fluorones

Réponse physiologique des bâtonnets et des cônes.

Dans nos premiers essais de détection des nucléotides à ribose (1950 -1955) au niveau des cellules visuelles des Batraciens Reptiles et autres animaux, nous avons observé leur présence plus ou moins nette dans les rétines des animaux gardés à l'obscurité. Sous l'effet des radiations lumineuses et colorées, leur teneur présentait des variations au niveau des bâtonnets et des cônes, c'est ce qui nous a suggéré leur rôle dans la vision, et leur relation possible avec le pourpre rétinien et l'iodopsine.

Du fait de leur dégradation plus ou moins nette après l'action des diverses radiations nous avons supposé aussi qu'il pouvait y avoir une certaine relation entre ces nucléotides et les différents produits de leur dégradation photolytique comme le rouge visuel, l'orangé transitoire, le jaune indicateur, le blanc visuel.

Ces substances nucléotidiques, que nous avons signalées ont été trouvées aussi par des biochimistes dans la rétine sous la forme de produits plus ou moins sensibles à la lumière (lacto flavine ou riboflavine) et ferments (les dinucléotides de la rétine et de réductase).

Plus récemment le rôle de ces nucléotides dans la synthèse des pigments visuels que nous avait suggéré nos résultats a été confirmé par les études de Wald et ses collaborateurs. (1955 - 56). Nous les avons localisées dans les segments externes des bâtonnets et des cônes, avec des différences de coloration et une répartition très légèrement variable selon les éléments sensoriels. Les bâtonnets sont plus sensibles à la lumière blanche, et les cônes plus résistants à celle-ci sont sensibles à la lumière bleue, que nous avons utilisée pour étudier son effet sur l'orangé transitoire à la suite des expériences de Ségal. Ce dernier avait démontré cette activité sur la rétine étalée de Grenouille. En essayant d'autres lumières colorées nous avons pu remarquer qu'elles pouvaient avoir une action sur les cônes. Dans notre étude histochimique de la substance des bâtonnets et des cônes, au début de ce travail, nous n'avions pas encore exposé les résultats de nos recherches histophysiologiques avec les lumières colorées chez les Grenouilles et les Crapauds, que l'on sait, maintenant, être sensibles aux couleurs.

Les nucléotides à ribose, ont été aussi détecté au niveau des cellules visuelles de l'Homme, du Chien, Lapin, Rat, Souris, Grenouille, Crapaud, Poisson, et même chez les Crustacés. Leur présence dans la rétine nous a paru comme le fait d'une répartition assez générale dans le règne animal. Au cours de ces investigations de contrôle nous avons trouvé les mêmes localisations histochimiques

et les mêmes variations de ces substances chez des animaux gardés à l'obscurité ou exposés à la lumière.

1) Etude de la sensibilité de l'Oeil à la lumière blanche.

Ces premiers résultats nous ont amené à examiner le rôle et le comportement des nucléotides dans les cellules visuelles et par là des bâtonnets et des cônes vis à vis des lumières dans les mêmes conditions de nos recherches histochimiques précédentes.

a) - Matériel.

Nous avons effectué nos expériences de photolyse surtout sur des Grenouilles, *Rana esculenta* L. parce que ce matériel a été utilisé par Ségal, et aussi parce que beaucoup de travaux biochimiques ont porté sur la rhodopsine de la Grenouille. Des observations ont été faites également sur le Crapaud, mais ce matériel est bien moins favorable.

Etendant nos expériences antérieures avec la lumière blanche et bleue nous avons utilisé les lumières : bleue, rouge, verte et jaune. Dans nos expériences premières nous étions placé dans des conditions analogues à celles de Ségal, par la suite nous avons augmenté la puissance des sources.

b) - Technique :

Les animaux, gardés à l'obscurité pendant six heures à 23 ° sont 1°) soit sacrifiés pour servir de témoins, et de matériel d'étude pour la rétine obscurée. 2°) soit exposés simplement à 10 cm d'une lampe électrique de 60 watts pendant trois à cinq minutes pour l'étude de la rétine éclairée.

Pour l'étude en lumière bleue, on les expose successivement à la lumière blanche (dans les mêmes conditions que ci-dessus), puis à une source de lumière bleue, placée à la même distance, mais pendant plus longtemps : 15 à 20 minutes. Cette source est obtenue en filtrant la lumière d'une lampe électrique de 250 W. par un ou plusieurs écrans bleus ne laissant passer que des longueurs d'onde comprises entre 4 500 Å et 5 000 Å avec une intensité suffisante pour provoquer la photolyse, (au dessus de 20 lux). Les écrans sont protégés de la chaleur par des cuves à faces parallèles contenant de l'eau.

Nous avons opéré sur des yeux énucléés ou en place, dans ce cas, on atténue l'action protectrice des franges pigmentaires (par anesthésie ou destruction des centres nerveux) ou bien encore on expérimente directement

Après exposition lumineuse convenable, les yeux sont rapidement plongés dans le liquide de Carnoy ou de Helly, on laisse durcir quelques instants à l'obscurité. Puis, sous la lumière rouge orangé, on les ouvre pour enlever toute la partie antérieure et le cristallin. La fixation est complétée ensuite à l'obscurité. Après lavage on pratique l'inclusion à la paraffine, ou au méthylsalicylate de celloïdine-paraffine.

Les coupes sont colorées soit au vert de méthyle-pyronine à pH = 4,6 soit soumises aux réactions cytoplasmiques et nucléotidiques, basées sur la réaction des fluorones associées avec la ribonucléase et les sels biliaires. Des colorations à l'azan et à l'hématoxyline ont été également pratiquées.

c) - Résultats avec la lumière blanche.

Dans la rétine obscurée de la Grenouille on trouve, au niveau des bâtonnets et des cônes, les mêmes localisations des ribonucléotides que nous avons déjà décrites. Les bâtonnets et les cônes donnent une réaction nucléotidique bien plus marquée à l'obscurité qu'à la lumière. Cônes et Bâtonnets sont colorés en rouge orangé assez pâle, mais nettement visibles.

Le segment externe du cône apparaît un peu moins coloré que celui des bâtonnets. Le segment interne avec la partie de l'ellipsoïde attenante est un peu plus coloré que le segment externe qui le prolonge. Cette coloration du cône paraît être l'inverse de celle du bâtonnet.

Dans la rétine éclairée, on observe que les franges pigmentaires descendent davantage qu'à l'obscurité et recouvrent en partie les éléments visuels, comme pour les protéger contre la lumière. Au niveau du segment externe des bâtonnets on observe encore une légère coloration rose orangé pâle. La diminution de coloration des nucléotides dans le segment externe est importante, surtout dans le milieu et dans la base de ce segment. Les disques du segment externe sont plus irréguliers, avec de petites vacuoles claires. Tous les bâtonnets ne sont pas touchés d'une manière identique, quelques uns conservent encore une certaine régularité dans l'empilement des disques. Dans ce cas, autour des bâtonnets, les pigments sont plus denses. Les bâtonnets de type "massue" sont beaucoup plus résistants. Dans le segment externe de ce bâtonnet on observe peu de modification de forme et de coloration. Parfois la région basale est moins colorée, on y observe l'apparition de quelques petites vacuoles, mais ces images sont assez rares. Les cônes dans la rétine éclairée ne présentent pas de modification notable, sauf une légère atténuation de coloration. Leurs segments externes restent cependant assez bien colorés, on peut y reconnaître les différents types de cône par leur forme et leur dimension.

Dans la rétine éclairée avec la lumière bleue, on observe des modifications plus nettes au niveau des cellules visuelles.

Les bâtonnets subissent un pâlissement dans leur ensemble du fait de l'exposition préalable à la lumière. Dans le segment externe des petites vacuoles plus nombreuses peuvent parfois, confluer et provoquer une perturbation dans l'arrangement des disques. Des faits analogues s'observent aussi dans le segment interne, mais de façon moins nette et moins fréquente.

Les cônes, surtout ceux de grande dimension, paraissent être le siège de modifications plus importantes que les bâtonnets. Le cône est très décoloré dans le segment externe et même dans le segment interne. Sous l'action de la lumière bleue ce segment interne présente une baisse de coloration plus sensible qu'en lumière blanche. Moins homogène, plus pâle et plus grenu il montre des altérations de substance dans la région proche de la myoïde, ce qui dénote sa grande sensibilité.

Les cônes de petite dimension, répartis entre les précédents restent assez colorés. Leur segment externe mieux conservé les montre comme plus résistants à la lumière bleue, certains cônes intermédiaires subissent un affaiblissement léger.

La lumière bleue possède une action marquée pour les cônes de grande dimension du type I. Selon ces résultats il semblerait que les cônes renferment plus ou moins des dérivés dégradés du type orangé transitoire, analogues à ceux des bâtonnets, (à cette période nous ne connaissons pas encore l'existence d'un dérivé orangé transitoire de cône avec même caractéristique). Ce que nous avons pu constater c'était que les cônes avaient une coloration analogue à celle des bâtonnets et une résistance un peu plus marquée à la lumière.

II) Etude de la réponse des cellules visuelles aux lumières colorées.

Nous avons repris les expériences de photolyse avec d'autres lumières colorées, bleu, rouge, vert et jaune, avec des témoins gardés à l'obscurité plus de six heures, à la température de 23 ° et en recherchant plus particulièrement les différentes variétés de cônes de la Grenouille.

a) - Les différents types de cônes de la Grenouille (*Rana esculenta*)

L'examen des rétines nous a permis de distinguer chez la Grenouille, quatre types de cônes. Relevés à l'aide d'un miroir oculaire et dessinés au fur et à mesure de leur passage dans le champ, ces éléments ont été décalqués et regroupés selon leur formes et dimensions. (voir fig. (7) et (8))

Au cours de cette étude quatre types de cônes, revenaient assez souvent, certains sont plus nombreux que d'autres.

Pour les décrire, conventionnellement nous les avons désignés par un chiffre numérique plutôt que par les dénominations classiques de "cône simple" ou "cône double", car ces termes pourraient apporter une confusion du fait que le cône double est formé par l'union de deux éléments différents qu'on peut trouver parfois à l'état isolé avec des formes identiques, et que le cône simple ou isolé peut être représenté par deux éléments différents par leur taille et leur forme. Nous les avons rangés par ordre de dimension décroissante, ce qui correspond à un ordre de fait : les grands cônes ayant été étudiés les premiers. (Ils avaient attiré notre attention lors de l'éclairement avec la lumière bleue).

- Le type I : est un cône allongé, d'assez grande dimension. Son segment externe bien coloré pénètre assez haut dans les franges pigmentaires. Il remonte vers le milieu du segment externe des bâtonnets. Allongé et grêle il possède une vacuole ronde, assez haut placée dans l'élément. L'Azan ou l'hématoxyline colore parfois aussi leur segment interne.
- Le type II : a la forme d'une bouteille parfois un peu ventrue. Assez grand, il arrive à la base du segment externe des bâtonnets sans la dépasser. Il présente une vacuole ronde, nettement visible légèrement plus grande que dans le type I. Son ellipsoïde est bien colorée, sa partie basale est cylindrique, parfois rétrécie.
- Le type III : est un cône grêle et plus fin. De dimension plus faible, il n'arrive pas à la partie supérieure du segment interne des bâtonnets, il est formé par un segment externe pointu, avec un corps intercallaire ovoïde allongé, bien coloré (ellipsoïde) la myoïde est fine, rétrécie, et peu colorée. Son volume serait le plus petit de tous les cônes. Coloré dans le segment externe et dans l'ellipsoïde, il ne présente pas de vacuoles ou très rarement. Il est souvent caché par les autres cônes et bâtonnets. On l'observe dans les régions paracentrales de la rétine et on le rencontre moins à la périphérie.
- Le type IV : est caractéristique, il ressemble à un gland, court ventru, coiffé d'une partie conique avec un segment externe. Sa partie inférieure, segment interne, est claire et non colorée. C'est dans le type IV qu'on rencontre les cônes les plus courts, ils ne possèdent pas de vacuole. Ce type de cône peut se contracter ou s'allonger, on trouve tous les cas intermédiaires. Les cônes IV, II et I sont répartis assez régulièrement dans la rétine. Les types I et II ont certains caractères communs : présence de vacuole, coloration de la région sous-vacuolaire correspondant à l'ellipsoïde en plus du segment externe. Le type III ressemble un peu au type II, quand ce dernier est renflé, cependant il est bien plus petit et ne



possède pas de vacuole. Le type IV n'a pas de vacuole tout comme le type III ; à première vue il est difficile de voir, des types III et IV quel est le plus long.

L'association des cônes du type IV et I pour former un cône double est assez fréquente, parfois on voit l'association IV et II. Nous n'avons pas trouvé d'association IV et III.

Dans les quatre types de cônes décrits dans les rétines obscurées, il n'y a pas dans nos conditions de technique (obscurité température de variation de forme et de dimension) Sous l'action des lumières, ils se contractent plus ou moins, mais on peut les reconnaître assez facilement. Les repères sont donnés par : la position soit du segment externe, soit des vacuoles par rapport au segment externe ou interne des bâtonnets, et aussi par leur relation avec les noyaux dans la couche des grains externes. Pour les cônes doubles l'association des noyaux est typique. Nous donnerons plus loin de plus amples détails.

b) - Particularités techniques.

Nous avons fait agir ensuite les lumières colorées en nous appuyant sur l'idée suivante : les Photorécepteurs étant plus résistants aux lumières colorées que les bâtonnets à la lumière blanche, doivent être convenablement éclairés pour obtenir un épuisement notable de leur substance. Pour une lumière colorée donnée le cône sensible à cette radiation, travaillera plus que les autres, et à la longue sa réserve s'épuisera. Etant donné que l'animal lutte et compense cette usure il faudra une lampe assez forte et faire une irradiation longue, en essayant de déterminer les conditions favorables à l'obtention de modifications visibles au niveau d'un type de cône. Ceux qui sont moins sensibles résisteront mieux et seront plus visibles, alors que les autres seront décolorés, ou présenteront des petites altérations cytologiques.

Comme les écrans colorés absorbent beaucoup de lumière, nous avons utilisé une source puissante en prenant une lampe à arc au fer, qui sous 135 volts et 5 ampères a donné une lumière plus vive. Les animaux sont placés à 3 cm de l'écran coloré, lui-même se trouvant environ à 15 cm de l'arc électrique, après les filtres (U.V.) et anticalorique.

Pour étudier les cônes et dans les conditions de vision photopique des couleurs, nous avons utilisé l'éclairement préalable avec la lumière blanche, ou en faisant un éclairement coloré associé (latéralement ou par-dessus) à une lumière blanche moins intense, donnant un demi-jour approprié avec la source colorée principale.

Pour chaque lumière nous avons choisi comme test d'activité, l'instant où l'animal manifeste sa fatigue vis à vis de la lumière excitatrice. La durée finale d'exposition comprend le début de l'éclairement, plus un temps de 3 à 5 minutes après le test d'activité, selon l'agitation de l'animal. La température ambiante pour la durée de l'éclairement est de 23 °, avec la lumière rouge il y a eu élévation de un degré, le rouge étant utilisé en fin d'expérience. (voir fg. (9) et (10)).

Le prélèvement, la fixation, l'inclusion des yeux se font selon la technique habituelle. Dans cette expérimentation nous n'avons pas anesthésié l'animal, ni détruit la moelle, la fixation qui se faisait à l'obscurité a été faite ici au début dans la lumière excitatrice. Après un certain temps, on place le tout à l'obscurité.

c) - Résultats avec les lumières colorées. (voir fig. 11)

Nos observations ont montré les résultats suivants :

Avec la lumière monochromatique bleue, on retrouve les résultats déjà décrits : effet photochimique net au niveau des cônes du type I. Le contenu du segment externe est devenu plus clair et pâle. le cône a perdu son aspect normal, sa plénitude, son contour est moins régulier, la région basale correspondant à la myoïde est gonflée et rendue plus fragile, elle éclate parfois (peut-être sous l'effet du rasoir). Les cônes du type II subissent un léger pâlissement dans leur segment externe, mais ils sont bien conservés, les cônes du type III et IV sont moins touchés par cette lumière.

Avec la lumière rouge, les modifications s'observent principalement sur le cône du type IV, devenu plus clair ; son segment externe ne se voit pas bien, la région de l'ellipsoïde attenante est aussi décolorée ; la région basale se gonfle, on la trouve parfois éclatée. Quelques éléments du type IV ont résisté et sont reconnaissables par leur région ellipsoïdique moins décolorée. Le cône du type III est aussi décoloré par la lumière rouge mais à un degré moindre, quand on le retrouve. Son segment externe et la région intercalaire sont colorés assez nettement. Les cônes des types II et I ne sont presque pas affectés. Le cône du type I est celui qui résiste le mieux. La lumière rouge semble cependant avoir une action marquée sur toutes les cellules de la rétine et leur donne un aspect particulier, cela est-il dû à l'effet thermique surajouté ou bien à l'effet particulier de la radiation rouge sur les pigments des cônes et des bâtonnets?

Avec la lumière verte, le test d'activité a été plus long à apparaître, cette lumière affecte peu les cônes du type IV et III, peut-être sont-ils un peu plus allongés. L'élément le plus sensible paraît être le cône du type II, peu visible dans son segment externe

chez l'animal fortement éclairé ; on le retrouve moins fréquemment que les autres dans la rétine. Le cône du type I est un peu sensible à la lumière verte.

De l'ensemble des observations précédentes, il résulte qu'on ne note pas dans nos conditions d'éclairage assez intense, une réponse spécifique à une irradiation donnée. On trouve seulement des types de cône plus sensibles pour une lumière colorée, mais les cônes de types voisins subissent un certain degré de photolyse lorsque les longueurs d'onde sont proches de celles pour lesquelles ils sont sensibles, à moins que notre éclairage ne soit trop brutal, ce que nous essayerons de vérifier plus loin.

Les radiations bleues de nos écrans sont comprises entre 450 à 500 $m\mu$, avec un maximum vers 475 $m\mu$, les radiations rouges entre 620 et 670 $m\mu$ avec maximum vers 650 $m\mu$.

Il nous a paru intéressant de signaler que la lumière bleue de courte longueur d'onde a touché les cônes de grande dimension du type I et que la lumière rouge à longueur d'onde plus longue a touché les cônes de faible dimension. La lumière verte avec un maximum de 520 $m\mu$ que nous avons utilisée, quoique moins sélective, produit un effet plus net sur les cônes du type II de moyenne dimension, elle toucherait légèrement le cône du type I ; cet effet décalé vers le bleu vient peut-être de ce que l'écran a absorbé davantage des radiations rouge et orangé de la lampe.

Les cônes du type III n'ont pas donné de réponses bien nettes pour les trois lumières : bleue, rouge et verte, leur sensibilité reste à préciser. Ce que nous avons pu observer dans cette première expérimentation, c'est qu'ils sont un peu sensibles à la lumière rouge.

Etant donné sa dimension intermédiaire entre le type IV (rouge) et le type II (vert), nous nous sommes demandé s'il ne serait pas sensible à une lumière colorée intermédiaire jaune, ou bien s'il serait sensible à la fois aux trois radiations selon les idées de Pieron. Son existence et sa réponse spécifique au jaune, donneraient droit de cité à l'existence d'une quatrième couleur servant de base à un système tétrachromatique pouvant faire la synthèse soustractive, dans laquelle le jaune aurait une place importante. Dans l'autre cas, il serait achromatique en donnant une sensation de blanc-jaune par la sensibilité aux trois lumières colorées.

Nous avons essayé de préciser ce point en recherchant dans de nombreuses coupes méridiennes horizontales et verticales, si la présence des quatre types de cônes était un fait général, afin d'éliminer la possibilité d'anomalies de forme ou de dimension provenant de l'atrophie accidentelle du type II qui aurait fait décrire un

type III non constant chez la Grenouille.

Nous avons recherché aussi dans la littérature le signalement des formes anormales et les travaux relatifs à l'existence de quatre types de cônes ou de quatre types de réponse en accord avec nos résultats.

L'expérimentation sur un plus grand nombre d'yeux de Rana esculenta adultes de différentes tailles sur des coupes bien orientées, nous a montré qu'on retrouve toujours les quatre types de cônes. Le cône du type III (plus difficile à retrouver parce qu'il est fin, grêle et caché par les pigments, les autres cônes et bâtonnets) existe bien. On le retrouve dans les régions paracentrales de la rétine et moins souvent vers la périphérie.

Nous avons constaté que les petites vacuoles observées lors de nos expériences de photolyse avec des lumières fortes, manquent au niveau des cônes et cellules visuelles non impressionnées, leur existence est liée à une forte irradiation.

Le cône du type III ne paraît pas être une forme aberrante dérivant des types II et I, ni du type IV ; il y aurait une certaine ressemblance avec les types II et I. Il est différent du type IV par sa forme.

Lauri Saxen (1953) a signalé chez la larve de Rana temporaria la présence de cellules anormales : un double cône atypique qui comporte en plus du cône principal et du cône accessoire, une troisième formation attachée au paraboloïde, identique au cône principal. Nous ne l'avons pas retrouvé chez Rana Esculenta L, ni chez Rana temporaria L adulte. Chez cette dernière on peut retrouver des cônes doubles formés par l'association du type IV et du type I assez régulièrement répartis dans la rétine, ainsi que quelques cônes doubles du type IV et II, mais tout en étant associés, ils possèdent une certaine autonomie de réponse analogue aux types I, II et IV dans les lumières respectives.

Dans la littérature, la théorie de Piéron (1931) basée sur des résultats physiologiques et des conditions de sensations, admet l'existence possible de quatre types de cônes, avec une mention particulière pour le type commun sensible à trois radiations et par là à une certaine brillance.

Les travaux de Granit (1947) sur la rétine de Grenouille ont montré que sa sensibilité spectrale se traduit par la présence de trois groupes de modulations. Mais on peut observer sur les courbes quatre maxima de modulations, situés à 470, 540, 580, 605 mμ correspondant au bleu (470), au vert (540), il groupe les deux autres maxima dans le rouge parce qu'il a adopté un système trichromatique.

A notre avis le maximum à 580 m μ correspondrait au jaune-orangé et le maximum 605-610 correspondrait au rouge-orangé. Il y a quatre maxima de réponses et non trois. Ces réponses électriques de 1947 contribuent à la notion de quatre réponses.

Nous avons recherché chez les Mammifères divers si l'on pouvait retrouver des résultats analogues. L'examen des rétines de Lapin, de Chien, et de l'Homme nous a montré un polymorphisme des cônes ; on retrouve les formes caractéristiques du type IV, de même divers types qui se rapprochent beaucoup des types I et II.

Ces résultats sont encourageants, bien que Ségat pense que rien ne permet jusqu'ici de distinguer parmi les cônes de la rétine, des éléments pouvant correspondre aux groupes chromatiques spécifiques. Ségat s'appuie sur les travaux de Polyak (1949) qui affirme que : "tous les renseignements dont nous disposons actuellement indiquent une uniformité structurale et fonctionnelle (un panchromatisme ou un polychromatisme centraux) à l'opposé des tentatives récentes hautement spéculatives tendant à établir une diversité et une multiplicité", au niveau des cônes des Mammifères et en particulier des Primates. Il est curieux de signaler le schéma de Policard (1950) montrant dans la rétine de l'Homme la présence de quatre types de cônes selon leur place dans la rétine. Prenons note seulement du chiffre quatre sans envisager la possibilité d'une existence fonctionnelle des types de ce schéma.

Pour améliorer nos résultats précédents nous avons fait des recherches complémentaires. Les résultats de photolyse avec la lumière verte n'étant pas francs, ni spécifiques, nous avons utilisé des écrans composés et un faisceau coloré de longueur d'onde plus étroit, mais ils absorbent trop les lumières. Nous avons utilisé alors des écrans Wratten Kodak n° 58 et 74, associés à des filtres Schott, et des écrans aux sels de didyme. Le filtre n° 58 absorbe les 2/3 du spectre et transmet le restant (480 à 600 m μ), son maximum étant 550 m μ . Le filtre n° 74 laisse passer les radiations de 510 à 570 m μ , son maximum est à 530 m μ . Sa transmission est de 15 % à 540 m μ , elle est environ de 10 %. Ces écrans associés ont été placés devant une lampe photoflood de 250 watts et aussi devant une lampe à vapeur de mercure. Les résultats de photolyse n'ont pas été améliorés. Après coloration on retrouve en gros la sensibilité du cône de type II avec une légère atténuation des types voisins. Supposant que nous avions des pertes lors des colorations et des réactions (lors de l'hydrolyse par exemple), nous avons amélioré les techniques par l'utilisation de colorations moins spécifiques, associées à l'Azan ou à l'hématoxyline, mais permettant de voir les modifications cytologiques.

Nous avons, dans ces conditions nouvelles, pu voir que le type IV résiste davantage à la lumière verte, mais que les cônes voisins subissent une action relative assez constante.

On peut considérer que la réponse des cônes serait plutôt de type préférentiel. La rétine n'est pas spécifiquement sensible à une lumière de longueur d'onde définie, elle n'est pas non plus capable de distinguer une lumière monochromatique d'une lumière mixte correspondante. Notre oeil ne peut distinguer un colorant vert comme le vert véronèse d'un mélange de bleu et de jaune qui le simule de façon absolue. Inversement un cône supposé sensible à une lumière monochromatique définie peut être sensible à un mélange de radiations diffusant une couleur moyenne. Il en résulterait qu'au niveau de l'oeil, il pourrait y avoir une sensibilité colorée propre et une sensibilité colorée résultant de l'association de deux sensations jumelées ressenties par une ou deux cellules associées. Ces faits expliquent aussi que parfois la sensation d'une couleur ou d'une lumière simple peut être mal perçue dans certaines conditions. Par exemple dans la lumière à vapeur de sodium la couleur jaune devient jaune-vert ou jaune grisâtre. Nous avons essayé de rechercher l'existence de sensations isolées et de sensations en synergie en utilisant l'adrénaline connue pour exalter la vision du vert (excitation parasympathique) et inhiber la sensation du rouge. Notre but n'est pas l'étude de l'antagonisme du système sympathique, mais de déconnecter les sensations associées pour rendre aux cellules leur sensibilité primaire. Les résultats sur la Grenouille ont donné avec l'adrénaline un effet plus net sur les cônes du type II, seuls ou associés. N'ayant fait qu'une seule expérience nos résultats n'ont qu'une valeur d'orientation. Une autre solution possible serait de paralyser les cônes bleus et jaunes qui pourraient donner la sensation synergique du vert, mais ne disposant pas des moyens nécessaires nous avons imaginé une solution détournée par l'étude des sensations associées de l'Homme avec les cercles de couleurs.

Lorsqu'un oeil humain regarde une source complexe colorée, formée par une lumière blanche solaire tombant sur un cercle de couleurs du type Beaudenau ou type charte des couleurs, l'oeil nu placé dans les conditions optima distingue bien le cercle coloré avec les 12 nuances régulièrement réparties : rouge (1), violet (2), bleu violacé (3), bleu (4), bleu (5), vert bleu (6), vert (7), jaune (9), jaune orangé (10), orangé (11), orangé foncé (12). Si on place devant l'oeil un écran de sélection trichromatique idéal du type Kodak Wratten rouge, vert ou bleu N° 25, 58, 47 ou 74 ou bien qu'on examine les cercles à la lumière d'une lampe à vapeur de sodium, l'oeil percevra sous ces influences nouvelles des sensations différentes. Du fait que l'on utilise des filtres trichromatiques idéaux, on aurait pu croire que seules les couleurs du spectre

identiques à leur couleur seraient visibles. Prenons par exemple l'écran Wratten N° 74 qui transmet surtout les rayons verts (l'écran vert n° 58 laissant passer un peu de rouge et de bleu). A travers cet écran, seules les couleurs vertes du cercle devront impressionner les cônes de la rétine du type II qui sont sensibles à ces radiations et particulièrement les longueurs d'ondes comprises entre 5.100 et 5.700 Å. Les autres couleurs correspondant à des radiations différentes ne seront pas transmises et seront grises ou noires, le tout noyé de vert. Or, en réalité dans ces conditions d'observation, dans le cercle des couleurs on observe des taches de couleurs claires et des couleurs sombres ou foncées. En raisonnant par rapport à la sensibilité du cône, cette sensation de clarté donnée par les taches pourrait s'expliquer par une plus grande sensibilité du cône envers ces couleurs: ce sont le jaune et le bleu qui sont les plus clairs et les plus visibles sur la moitié droite du cercle.

Le jaune appartient au quadrant jaune-vert, l'intensité lumineuse perçue par la rétine est maxima pour le jaune et va en décroissant dans le vert-bleu, un deuxième maximum de clarté se situe dans le bleu pour décroître vers le violet. Les autres couleurs du quadrant jaune-orangé à rouge, et violet à bleu impressionnent peu la rétine de l'observateur.

Puisqu'en définitive, il n'arrive sur la rétine de l'observateur que des longueurs d'onde vertes, le jaune et le bleu du cercle des couleurs excitent la rétine beaucoup plus que le vert lui-même. Les cônes sensibles au jaune et ceux sensibles au bleu seraient ils impressionnés par la lumière verte, qui les touche de façon associée, ou bien y aurait-il dans certaines conditions une impression isolée du cône II ? Cette étude peut donner l'explication de la difficulté de mise en évidence de la spécificité de ce cône. Elle expliquerait en outre pourquoi l'oeil serait assez sensible dans le vert, le nombre total d'éléments intéressés étant plus grand.

Avec des écrans rouges (Wratten N° 25) les éléments sensibles à la lumière rouge seraient des cônes du type rouge et jaune, ou leur association qui est l'orangé. La spécificité est plus grande ici, à l'examen derrière l'écran il n'y a que le quart du cercle (contenant le rouge et les couleurs voisines qui est clair, ce qui explique nos résultats plus nets avec le rouge.

Avec l'écran bleu-violet (4.000 - 4.500 - 5.180 Å) les éléments les plus sensibles sont le bleu et le violet. Ces lumières sont fatigantes si elles sont vives. Les éléments sensibles sont

- III -

surtout excités par le bleu, ce qui explique les résultats assez précis trouvés au cours de nos expériences.

A la lumière des vapeurs de sodium donnée par la lampe Philipps type 57.002 B 50, 45 W., 2.700 Lu. fonctionnant sous 300 Volts alternatif, le cercle des couleurs a donné une mise en repos de certaines sensations de couleur, sauf du jaune. Ce jaune (un peu verdâtre) est perceptible, ainsi que le jaune orangé se traduisant par un jaune grisâtre, le rouge par contre est gris et toutes les autres couleurs sont gris ou noir.

Ces observations nous montrent donc qu'il existe au niveau de la rétine des éléments sensibles aux différentes couleurs fondamentales que nous avons démontrées pouvant avoir une sensibilité propre pour une couleur, ou une sensibilité d'association pour une couleur mixte, en synergie avec d'autres éléments, ou en antagonisme de façon à engendrer des sensations colorées par addition ou par soustraction.

Il reste encore à démontrer le rôle du cône du type III, déterminé sur de nombreuses préparations. Vu sa dimension et le rôle déjà attribué aux autres cônes nous nous sommes demandé s'il ne serait pas sensible à une lumière colorée intermédiaire entre le rouge et le vert, comme le jaune (couleur de base pour une synthèse soustractive) ou bien ce cône serait achromatique et donnerait la sensation de blanc par la réunion de trois substances photosensibles selon l'idée présentée par la tétrade de Piéron.

Dans ce but nous avons cherché à réaliser l'association des écrans rouge, vert et jaune, mais les écrans ainsi formés absorbent trop de lumière. De plus, la lumière jaune obtenue est mixte et peut exciter les cônes rouges et verts, si bien que nous avons préféré utiliser la lumière à la vapeur de sodium d'une lampe Philipps. Sa lumière est principalement jaune et ne laisse passer qu'un très faible pourcentage de rouge et de vert que l'on peut considérer comme négligeable. Les Grenouilles, préparées et exposées en suivant nos techniques classiques, sont maintenues à 10 et 15 cm de la source lumineuse, la température ambiante étant environ 22°. La durée totale d'exposition à la distance de 10 cm de la source est de 5 minutes, et de 10 minutes pour une distance de 15 cm. Les rétines prélevées aussitôt et fixées à l'obscurité ont été colorées à l'Azan et traitées aux fluorones. L'examen montre que la lumière à vapeur de sodium est active surtout sur les bâtonnets qu'elle fait pâlir. Les autres cônes du type I, II et IV paraissent

être mis en repos, l'épithélium pigmentaire n'assure pas leur protection avec une intensité marquée comme pour la lumière verte. Dans la région paracentrale et au delà, on rencontre souvent des cônes du type III. Lorsqu'on a la chance de trouver dans un champ les quatre types, c'est en général le type III qui est le plus pâle dans sa partie externe, le cône du type IV semble avoir pâli un peu, ce qui est conforme avec l'examen des cercles colorés à la lumière de vapeur de sodium. Ces résultats ont été observés aux deux temps d'exposition de 5 à 10 minutes. La durée de 10 minutes nous a cependant donné une action plus marquée. Il semble donc se confirmer que les cônes du type III soient sensibles à la lumière jaune.

Nous n'avons pas refait les expériences de Hartridge (1948) qui admet l'existence d'un récepteur spécifique de rayons jaunes. Cet auteur utilise trois écrans jaunes : jaune spectral, jaune par suppression de la partie bleue et violette du spectre, jaune laissant passer une bande rouge et une bande verte, mais absorbant le jaune spectral. Les expériences de Hartridge plus complètes que les nôtres, et non identiques, ont l'intérêt de montrer l'existence possible de récepteur du jaune.

Nous devons rappeler ici la courbe de Granit (Voir fig. 12) enregistrée sur la Grenouille, et qui met en évidence la présence de quatre types de modulateurs caractérisés chacun par une courbe de sensibilité spectrale définie dans le bleu, le vert et le rouge et d'un quatrième situé dans la région de 5.700 Å c'est à dire dans le jaune, puisque le jaune spectral est à 5.800 Å, et le jaune dans la classification de Helmholtz à 5.720 Å. Ces courbes de sensibilité des quatre types de modulateurs obtenues en fonction des longueurs d'ondes du spectre confirment donc bien nos résultats histochimiques.

Nous devons rapprocher également les travaux de Motokawa, Ebe, Arakawa et Oikawa (1951) qui admettent aussi l'existence de récepteurs spécifiques à sensibilité sélective dans le jaune. En utilisant la technique de Motokawa, ces auteurs excitent l'oeil par une lumière monochromatique pendant deux secondes; après cessation du stimulus lumineux, ils excitent ensuite l'oeil par un stimulus électrique à seuil déterminé. Le seuil est abaissé par l'excitation préliminaire. Le gain de sensibilité varie avec l'intervalle qui sépare la fin du stimulus lumineux et le début du stimulus électrique. Il se dessine un optimum assez bien marqué qui se situe à une seconde d'intervalle pour la lumière rouge, à 1,5 seconde pour la lumière jaune, à 2 secondes pour la lumière verte et à 3 secondes pour la lumière bleue. Le point le plus intéressant

à signaler est le rapprochement des résultats de ces auteurs avec les nôtres il concernent la place des réponses selon un ordre défini des éléments récepteurs : rouge, jaune, vert et bleu, (déterminée par l'intervalle séparant le stimulus lumineux et l'instant du maximum du stimulus électrique, qui va en croissant respectivement 1, 1,5, 2, 3 secondes) et la dimension croissante des cônes des types IV, III, II et I et sensibles respectivement dans l'ordre aux radiations : rouge, jaune, vert et bleu.

Cette gradation des dimensions des cônes chez la Grenouille, liée avec leurs sensibilités aux longueurs d'onde paraît confirmée. Ce fait, s'il est acquis, sera important. D'ailleurs, les notions bibliographiques rassemblées et confrontées avec nos résultats expérimentaux montrent, qu'on est en présence de résultats convergents.

Toutes ces recherches différentes, basées sur des techniques et des principes très divers et apportant des résultats qualitatifs et quantitatifs dans le même sens, méritent d'être signalées. L'existence d'un récepteur du jaune, donnerait droit de cité à une couleur fondamentale jaune, nécessaire pour un système de sensations par synthèse soustractive au niveau de l'oeil, qui s'ajouterait aux trois autres couleurs fondamentales de la théorie de Young-Helmholtz et jouerait alors sur la base d'une vision tétrachromatique permettant de concevoir la vision des couleurs ou des lumières par le mode de synthèse soustractive et additive.

Nos premiers résultats conformes à la théorie de la dualité des bâtonnets et des cônes, modifient légèrement la théorie de Young et Helmholtz, tout en la rajeunissant par l'apport d'une quatrième couleur fondamentale jaune.-

C - RECHERCHES RECENTES SUR LA PHYSIOLOGIE DE LA RETINE AVEC DES

METHODES ET REACTIONS HISTOCHIMIQUES NOUVELLES.-

I/ Principe et méthode.-

Jusqu'ici nos résultats reposaient sur la détection des nucléotides à ribose avec les réactions des fluorones, les colorations signalétiques à l'azan, l'hématoxyline, ainsi que des colorations histologiques. Elles ont permis de montrer d'abord, au cours de nos expériences de photolyse en lumière blanche, la dualité des bâtonnets et des cônes, ensuite, avec des lumières colorées monochromatiques de déceler quatre types de cônes qui répondent de façon préférentielle aux lumières excitatrices: rouge, jaune, verte, bleue.

Afin de mieux préciser le mécanisme des réponses des cônes nous avons recherché depuis, d'autres réactions plus précises et plus générales, ainsi qu'une méthode de recherche basée sur des connaissances plus complètes de la photochimie des cellules visuelles.

Nous pourrions alors étudier le mécanisme général de la vision colorée. La base de nos recherches récentes repose sur des principes et méthodes suivantes : les nucléotides à ribose que nous avons étudiés au niveau de la rétine, jouent un rôle important dans le cycle de synthèse des pigments visuels. Leur présence et leur rôle ont été confirmés en 1955 de façon démonstrative et élégante par Wald, Brown, Smith, Hubbard et collaborateurs 1955). Ils ont montré que le all trans rétinène résultant de la dégradation de la rhodopsine et de l'iodopsine ne peut servir à les régénérer que s'il

est réduit en vitamine A et isomérisé en produit actif : le néorétinène b. Cette réduction est dirigée par le couple enzymatique alcool-déhydrogénase et cozymase, travaillant de concert avec les isomérases de l'épithélium pigmentaire dans le cycle d'isomérisation. C'est la cozymase, ou phosphodinucléotide, ou D.P.N.H ou dinucléotide à ribose qui est mise en évidence par les réactions des fluorones au niveau des cellules visuelles en même temps que d'autres dérivés nucléotidiques moins spécifiques. La présence du D.P.N.H. est indispensable pour la synthèse. Il contribue à la réduction et à la transformation des caroténoïdes inactifs, quelles que soient leur configuration isomérique et leur origine (A 1 - A 2) pour reformer la rhodopsine ou l'iodopsine. C'est la fraction protéique ou opsine qui exige pour se condenser un isomère actif : le néorétinène (b) (isomère cis), qu'on ne retrouve que dans la rétine. Il en est de même pour la synthèse de la porphyropsine avec la vitamine A 2 et la cyanopsine des Vertébrés et Poissons d'eau douce.

On conçoit que les nucléotides à ribose qui ont le pouvoir de transformer tous les caroténoïdes rétinien, A 1, A 2 puissent être très répandus dans toutes les espèces animales. Cette propriété des nucléotides, explique nos résultats de détection, chez divers animaux, au cours de nos recherches précédentes.

Si on compare leur répartition et leur fonction au niveau des cellules visuelles avec celles des caroténoïdes, on voit que ces derniers suivent un cycle : les caroténoïdes devenus inactifs sont récupérables pour la plus grande partie, le rétinène n'étant pas détruit. Il suffit de le réduire et de l'isomériser. Cette récupération se fait grâce au couple diastasique nucléotidique. Au cours du travail l'enzyme nucléotidique, lorsqu'il est détruit, ne se régénère pas. On conçoit la relation entre la dégradation des pigments visuels caroténoïdiques qui traduit l'activité de la lumière qu'on observe dans les rétines éclairées.

Pour provoquer une usure d'un système enzymatique dont le renouvellement s'effectue par la circulation et l'épithélium pigmentaire on conçoit qu'il faut un éclairage assez énergique, c'est ce que nous avons constaté expérimentalement. Les réponses des cellules visuelles dépendent surtout des conditions opératoires, et non des réactions des fluorones vis à vis des nucléotides. Si les décolorations ne sont pas franches, nettes, ou ne se font pas, c'est que les éléments possèdent une résistance vis à vis des lumières. On ne peut considérer ce fait comme tel, que si on a des repères d'activité lumineuse; c'est pourquoi au début de nos recherches nous avons éclairé avec des sources fortes qui nous ont permis de voir des décolorations des cellules visuelles, avec un aspect semi-pathologique tel que l'apparition de vacuolules, perte du contour

est réduit en vitamine A et isomérisé en produit actif: le néorétinène b. Cette réduction est dirigée par le couple enzymatique alcool-déhydrogénase et cozymase, travaillant de concert avec les isomérases de l'épithélium pigmentaire dans le cycle d'isomérisation. C'est la cozymase, ou phosphodinucléotide, ou D.P.N.H ou dinucléotide à ribose qui est mise en évidence par les réactions des fluorones au niveau des cellules visuelles en même temps que d'autres dérivés nucléotidiques moins spécifiques. La présence du D.P.N.H. est indispensable pour la synthèse. Il contribue à la réduction et à la transformation des caroténoïdes inactifs, quelles que soient leur configuration isomérique et leur origine (A 1 - A 2) pour reformer la rhodopsine ou l'iodopsine. C'est la fraction protéique ou opsine qui exige pour se condenser un isomère actif : le néorétinène (b) (isomère cis), qu'on ne retrouve que dans la rétine. Il en est de même pour la synthèse de la porphyropsine avec la vitamine A 2 et la cyanopsine des Vertébrés et Poissons d'eau douce.

On conçoit que les nucléotides à ribose qui ont le pouvoir de transformer tous les caroténoïdes rétinien, A 1, A 2 puissent être très répandus dans toutes les espèces animales. Cette propriété des nucléotides, explique nos résultats de détection, chez divers animaux, au cours de nos recherches précédentes.

Si on compare leur répartition et leur fonction au niveau des cellules visuelles avec celles des caroténoïdes, on voit que ces derniers suivent un cycle : les caroténoïdes devenus inactifs sont récupérables pour la plus grande partie, le rétinène n'étant pas détruit. Il suffit de le réduire et de l'isomériser. Cette récupération se fait grâce au couple diastasique nucléotidique. Au cours du travail l'enzyme nucléotidique, lorsqu'il est détruit, ne se régénère pas. On conçoit la relation entre la dégradation des pigments visuels caroténoïdiques qui traduit l'activité de la lumière qu'on observe dans les rétines éclairées.

Pour provoquer une usure d'un système enzymatique dont le renouvellement s'effectue par la circulation et l'épithélium pigmentaire on conçoit qu'il faut un éclairage assez énergique, c'est ce que nous avons constaté expérimentalement. Les réponses des cellules visuelles dépendent surtout des conditions opératoires, et non des réactions des fluorones vis à vis des nucléotides. Si les décolorations ne sont pas franches, nettes, ou ne se font pas, c'est que les éléments possèdent une résistance vis à vis des lumières. On ne peut considérer ce fait comme tel, que si on a des repères d'activité lumineuse; c'est pourquoi au début de nos recherches nous avons éclairé avec des sources fortes qui nous ont permis de voir des décolorations des cellules visuelles, avec un aspect semi-pathologique tel que l'apparition de vacuolules, perte du contour

cellulaire, aspect plus ou moins grenu des régions de l'ellipsoïde, réactions pigmentaires, fragilisation de la myoïde etc. Une fois ces signes acquis, il nous sera facile de régler notre source lumineuse et de déterminer un temps d'exposition plus physiologique.

Dans le métabolisme des pigments visuels, les caroténoïdes renfermant du rétinène récupérable restent dans le cycle de l'iodopsine et de la rhodopsine et ne peuvent donc, à priori, servir à les différencier; cependant si la lumière ne détruit pas le groupement du rétinène elle le détache du pigment caroténoïdique initial. On peut observer sa raréfaction au niveau du bâtonnet, alors qu'au niveau des cônes, théoriquement, il devrait résister mieux. En fait la rétine éclairée montre qu'il est détaché par une forte lumière blanche (sans doute par rupture d'une liaison lipidique entre les caroténoïdes et la protéine). Pour l'étude des cônes en lumières blanche et colorée on voit que les caroténoïdes importants dans le cycle de la vision sont moins caractéristiques que les nucléotides fragiles, eux-même moins spécifiques que les protéines ou opsines.

Wald et ses collaborateurs ont démontré que la scotopsine diffère de la photopsine. Bien que protéines de la même famille, elles ont des propriétés différentes, et communiquent aux pigments des bâtonnets et des cônes des propriétés particulières vis à vis des lumières et des couleurs. Ces propriétés sont :

1°/ la photopsine à forte affinité pour le néorétinène (b) le capte avec une rapidité plus grande, il lui faut 3 à 5 minutes pour réaliser la synthèse. Cette affinité plus grande communique aux pigments des cônes une résistance plus nette à la lumière blanche.

2°/ La scotopsine à affinité moins forte demande un temps plus long (une heure). Cette fixation moins énergique donne au pigment des bâtonnets une sensibilité plus grande. Elle est propice à la vision des bâtonnets même dans une faible lumière (vision scotopique). A la grande lumière sa grande sensibilité joue encore, et on dit qu'une lumière est aveuglante, tandis que les couleurs ne sont que criardes. La scotopsine comme la photopsine sont des protéines qui restent liées avec le pigment visuel lors de la dégradation. Sous l'action de la lumière il se forme des lumi, et métarhodopsines. Ce n'est qu'en fin de stade que les opsines sont détachées avec du rétinène alltrans. Ce départ de l'opsine appauvrit le segment externe des bâtonnets, si les éclairissements sont intenses et durables on peut concevoir que la détection de la protéine reflète la réponse des éléments visuels aux lumières et couleurs, car l'iodopsine suit le même cycle avec une vitesse de réaction plus lente.

Dans le cycle des pigments visuels developpe ici sous l'angle histochimique, on entrevoit la possibilité d'en saisir le mécanisme. On conçoit l'importance respective de ces trois substances principales, protéine, nucléotide, et caroténoïde du cycle. Leur localisation cytodynamique au niveau des bâtonnets et des cônes permettra une étude histophysiologique de la rétine vis à vis des lumières et des couleurs.

Bien que Wald et ses collaborateurs aient pu réaliser ces pigments "in vitro" en dehors des lipides et des glucides, et montrer leurs transformations successives, dans un cycle biochimique fondamental, il nous semble que dans la rétine il n'en est pas ainsi. Ce cycle de synthèse, dans le milieu vivant a besoin pour s'exprimer d'un substratum morphologique, et c'est dans la relation de ces substances avec ce dernier que doivent intervenir lipide et glucide.

Nous avons déjà étudié les lipides et les glucides dans le chapitre des pigments. Nous avons proposé une explication de leur rôle, qui, selon notre hypothèse de travail consisterait à la formation d'une combinaison physique ou chimique faiblement liée, pour constituer une forme de stockage des pigments au niveau du substratum du segment externe. Ce complexe serait sensible à la lumière blanche, et libérerait les pigments qui entreraient à leur tour en fonction. Les lipides et glucides aideraient à leur fixation sur le substratum et favoriseraient leur métabolisme. Le microscope électronique montre que ce support est de nature lipidoprotidique. Pour Wislocki et Sidmann (1954) elle serait glucido-lipido-protidique. Ce qui est certain c'est que lipides et polysaccharides, présents au niveau des bâtonnets et des cônes, sont sensibles à la lumière d'après nos résultats en accord avec ceux de Karli et Vilter (1957).

II - NOUVELLES REACTIONS HISTOCHIMIQUES DES PIGMENTS

RETINIENS ET DES PRODUITS METABOLIQUES DE LEURS CYCLES. -

En vue de la localisation des substances essentielles du cycle biochimique des photorécepteurs et de leurs substances métaboliques nous avons essayé de mettre au point des réactions histo-chimiques nouvelles en suivant les principes chimiques définis en

essayant de les adapter à la détection cytologique. Parfois il existe des réactions très spécifiques théoriquement meilleures "in vitro", mais nous donnerons le pas à des réactions sûres et se rapprochant davantage des techniques histologiques ou histo-chimiques plus adaptées aux tissus et à nos conditions de techniques.

a). Détection des protéines, de la rhodopsine et de l'iodopsine.-

Nous avons recherché parmi les méthodes de détection des protéines celles qui permettraient de retrouver les différences de comportement des opsines vis à vis des lumières. Différentes solutions ont été préconisées. Nous nous sommes inspiré des techniques de Wald et de ses collaborateurs, qui utilisent, pour préparer le pourpre, du matériel tanné à l'alun en précipitant les protéines et la rhodopsine sans trop les altérer (puisque c'est sur ce matériel centrifugé et lyophilisé qu'ils font l'extraction du pourpre). Nous avons utilisé l'affinité de l'alun pour les protéines, en particulier pour le pourpre. On connaît les optogrammes de Boll à l'alun qui permet de fixer sur la rétine des animaux à pourpre les images rétinienne. Nous avons choisi l'alun de fer, et c'est le fer qui révélera la présence de l'alun combiné avec la protéine du pourpre. La réaction de la laque alun de fer et hématoxyline est très connue des histologistes ainsi que sa différenciation, elle donnera de très belles images fines, et bien colorées.

Notre technique de détection des opsines, n'est pas une simple coloration à l'hématoxyline, elle est axée sur la détection de l'alun et sur la propriété biologique du pourpre d'être dégradé par la lumière, c'est surtout la disparition du pourpre dans la rétine éclairée et sa persistance dans la rétine obscurée témoin, qui caractériseront la réaction opsine/alun.

On fixe les yeux obscurés et éclairés dans du formol à 15 %, aluné à 2 % pendant douze heures. Au cours de la fixation, on favorise la pénétration du fixateur réactif par ouverture de la cornée, après un léger durcissement on enlève toute la partie antérieure de l'oeil et le cristallin. La fixation se continue à l'obscurité.

Après lavage rapide, on inclue aussi rapidement que permet la technique. Le passage à l'alcool, au xylol, ou à l'acétate d'amyle ou au salicylate de méthyl celloïdine, et à la paraffine doivent être les plus rapides possible pour éviter les pertes de substances.

Les coupes déparaffinées, sont ensuite placées dans une solution d'alun de fer à 5 % pendant six à douze heures au plus (au-delà la réaction semble perdre de sa valeur histochimique) l'action de l'alun va trop loin et paraît dénaturer l'opsine, on lave longtemps et très soigneusement les préparations pendant une demi à une heure, et plus, selon la grosseur des yeux. La coupe est plongée dans la solution classique d'hématoxyline le minimum de temps nécessaire pour une légère surcoloration. La différenciation se fait par une solution d'alun de fer à 3 % et à 1 % pour enlever l'excès d'hématoxyline ferrique, elle doit être soignée et poussée de manière à obtenir une gradation de teinte (on se base surtout sur la couche des grains externes et les cônes les plus petits de la rétine, pour avoir le rapport respectif des nuances surtout pour les rétines éclairées. Si la différenciation est insuffisante la différence des colorations des éléments visuels est bien moins évidente). N'importe quel colorant : l'hématéine, l'alizarine, etc. se combinant à l'alun pour former une laque, peut convenir puisque c'est l'alun qui est important. En général l'hématoxyline convient, car on peut différencier et bien enlever l'excès d'hématoxyline ferrique, c'est une coloration sûre et commode.

Les réactions au bleu de Prusse et au bleu de Turnebull, bien que très sensibles, traduisent la présence du fer et non de l'alun, si bien que leurs résultats ne reflètent pas de façon exacte les propriétés biologiques du pourpre dans les rétines obscurées et éclairées. Le réactif démasque le fer du complexe alun et aussi le fer fixé sur le stratum des cellules visuelles.

Nous avons pu par la suite appliquer la réaction opsine-alun.-hématoxyline sur du matériel fixé au formol, et au liquide de Helly, à condition d'éliminer le mercure au maximum par le lavage. La fixation au liquide de Helly doit être courte, on la complète par le formol aluné.

Une deuxième réaction des opsines, basée sur la réaction à l'encres de J. Turchini a été également essayée. On complexe la protéine par une solution de tannin formolé. Après une nuit de traitement, on lave soigneusement et, après inclusion et coupe, on révèle le tannin par le bleu de méthylène, ou tout autre réactif. C'est le bleu de méthylène qui donne le meilleur résultat car les sels de fer ne donnent qu'une coloration bleu verdâtre lavé, peu favorable à la lecture. Cette réaction est moins précise et moins spécifique que les précédentes, mais elle peut avoir son utilité comme contrôle dans notre méthode convergente.

Ces réactions, appliquées sur les rétines de Grenouilles nous ont permis de constater que les segments externes des bâtonnets des animaux gardés à l'obscurité sont colorés en bleu noir, de même le segment externe des cônes. Les parties du segment interne de ces deux éléments correspondant par exemple à la région de l'ellipsoïde sont colorées. Dans la rétine éclairée, le segment externe du bâtonnet se décolore, si l'éclairement est faible il y a une diminution très notable de la coloration du segment, et on peut reconnaître les disques plus ou moins décolorés. Certains bâtonnets résistent plus que d'autres. La région colorée du segment interne des bâtonnets et des cônes ne renfermant pas la rhodopsine persiste. Le segment externe des cônes qui contient la photopsine résiste à l'action de la lumière et est bien coloré. Cette réaction alun-opsine hématoxyline traduit bien la différence entre bâtonnets et cônes et leurs réponses à la lumière.

b). Détection des nucléotides à ribose au niveau des cellules

visuelles.-

Pour cette détection nous utilisons les réactions cytoplasmiques et nucléotidiques, associées à la ribonucléase et aux sels biliaires.

Pour avoir une unité de comparaison au cours des nombreuses techniques nous avons appliqué toutes les réactions sur les mêmes coupes d'une même rétine. Tous les fixateurs ne conviennent pas, et nous avons choisi le formol, ou formol aluné comme fixateur général. Par ce choix ces réactions des fluorones ne sont pas dans leurs meilleures conditions, ce qui explique certaines réactions pâles rencontrées dans les techniques d'ensemble. Lorsqu'on veut préciser certains détails, on examine alors des préparations de rétines éclairées dans les mêmes conditions, mais fixées avec des fixateurs spéciaux. Lorsqu'on est bien entraîné dans la lecture des coupes la ribonucléase n'est pas nécessaire, (la nature du nucléotide étant connue) la réaction cytoplasmale peut suffire.

c). - Détection des caroténoïdes des cellules visuelles et de la

rétine.-

La détection et la caractérisation des caroténoïdes est possible "in vitro" avec la réaction au trichlorure d'antimoine au milieu chloroformique qui donne une coloration bleue. ils peuvent

être recherchés aussi par la réaction à l'iode en milieu sulfurique sur des tissus frais, ou fixés, et coupés à la congélation, mais elle ne convient pas pour la rétine.

Nous avons repris alors la réaction au trichlorure d'antimoine de Carr et Price pour l'appliquer dans nos recherches histochimiques. Dans cette réaction initiale on utilise l'affinité du trichlorure d'antimoine pour les caroténoïdes et on profite de la propriété du chloroforme pour faire apparaître la coloration bleue. A la surface de séparation des deux liquides apparaît la couleur bleu qui passe dans la solution chloroformique. C'est cette coloration bleue qui est caractéristique. Si on faisait la réaction sur les coupes, la coloration bleue passerait dans le réactif et la coupe n'est plus utilisable.

L'idée nous est venue d'utiliser l'affinité du trichlorure d'antimoine pour les caroténoïdes sous forme d'une solution aqueuse et chlorhydrique pour éviter l'hydrolyse du sel ; nous révélons la combinaison antimoine - caroténoïde, non plus par le chloroforme, mais par un réactif organique spécifique de l'antimoine, qui est la 9 phényl-fluorone dans la technique que nous avons préconisée en 1945. La solution du réactif est une solution saturée de fluorones, dans un mélange de liquides apolaires très pénétrant porté à pH = 3,5.

La technique de cette réaction trichlorure d'antimoine - caroténoïde, par les fluorones, se fait de la façon suivante :

fixation au formol des rétines éclairées et obscurées. -

réaction sur les coupes déparaffinées avec une solution filtrée et assez fraîchement préparée de trichlorure d'antimoine à 5 % dans de l'eau distillée et acidulée par l'acide chlorhydrique. Après contact et mordantage (analogue à la technique alun-hématoxyline) à la température du laboratoire pendant, un quart, une demi à une heure, on lave modérément à l'eau distillée pour enlever l'excès de réactif sans toucher au complexe légèrement soluble : on passe rapidement à l'alcool à 90°, on plonge la préparation dans le réactif de l'antimoine (préparé comme suit : benzène 10 cc, chloroforme 10 cc, alcool amylique 30 cc, alcool éthylique X gouttes. A ce mélange on ajoute, à saturation de la 9 phényl fluorone, on filtre et on acidifie avec l'acide chlorhydrique (D = 1,19) à raison de XV gouttes pour 100 cc de véhicule. On vérifie sur papier filtre marqué au trichlorure d'antimoine, la réaction est presque instantanée par apparition, en présence d'antimoine, du précipité rouge caractéristique). Après

15 à 20 minutes la préparation lavée à l'alcool pour enlever l'excès de réactif est deshydratée et montée au baume.

Sur la préparation de rétine obscurée on note une coloration rouge au niveau des parois des vaisseaux du voisinage de la couche des cellules pigmentaires. Toute la couche des franges pigmentaires est fortement colorée en rouge vif. La substance antimoine-caroténoïde se trouve également dans la couche des cellules visuelles; on a l'impression que les substances caroténoïdiques diffusent de l'épithélium pigmentaire pour venir englober et s'adsorber sur les cellules visuelles. Cette substance caroténoïdique s'arrête assez nettement à la limitante. Assez rarement elle la dépasse et imprègne les couches nerveuses. Cette localisation donnée par la réaction trichlorure d'antimoine -caroténoïde, reflète assez bien les notions biochimiques relatées au sujet de l'apport sanguin et du rôle des franges pigmentaires. Ces réactions montrent au niveau des bâtonnets de la rétine éclairée le rôle photochimique de la lumière.

d).- Détection des polysaccharides au niveau des cellules visuelles.-

Pour étudier le glycogène au niveau de la rétine, nous avons utilisé divers réactifs des sucres en plus des fluorones. La réaction de Mac Manus était positive au niveau des bâtonnets et des cônes de la rétine obscurée (la substance positive n'étant pas du glycogène) Par la suite en étudiant les rétines éclairées nous avons pu remarquer que les cônes sont bien plus colorés par rapport aux bâtonnets. Nous avons pensé que les glucides pouvaient intervenir de façon indirecte dans les cellules visuelles. Plus récemment nous avons repris leur étude, bien que, d'après Wald, les réactions photochimiques puissent se faire en dehors des glucides, parce que nous nous sommes aperçu qu'on pouvait les utiliser pour l'étude de l'effet de la lumière. De même Vilter (1957) a fait des observations analogues. Nous avons utilisé la réaction de Mac Manus au cours de nos recherches physiologiques, car elle est assez facile et fidèle.

Les coupes sont traitées par l'acide periodique. Après lavage et réaction avec l'acide fuchsine-sulfureux, on obtient de belles colorations en teignant le fond au vert lumière.

e). Détection par la coloration signalétique à l'azocarmin.

=====

La coloration à l'azocarmin appliquée sur les rétines fixées au liquide de Carnoy, de Helly ou au formol donne, au niveau des bâtonnets et des cônes des rétines obscurées, de très belles colorations des segments externes. L'appliquant sur la rétine éclairée nous avons eu la surprise de voir que le segment externe des bâtonnets est décoloré, alors que celui des cônes présentait une coloration rouge orangé net, des vérifications ont montré que cette coloration reflète bien le rôle de la lumière sur les substances visuelles de la rétine. La signification histochimique de cette coloration est encore indéterminée ; ce que nous savons c'est qu'elle ne colore pas les lécithines et les graisses de ce groupe, par contre elle colore les noyaux, les cytoplasmes des cellules du pancréas, et la substance des bâtonnets et des cônes. Nous pensons pour le moment qu'elle doit colorer les glucoprotéines, car c'est un dérivé azoïque du carmin. Les localisations étaient les mêmes que celles données par les fluorones et l'hématoxyline. C'est pourquoi depuis longtemps nous l'avons utilisée pour le travail courant. Elle possède une valeur réelle, car la coloration rouge est facile à observer. La condition essentielle pour avoir une localisation correcte est de pousser la différenciation le plus loin possible afin d'éviter la surcharge du colorant, en prenant les mêmes repères que pour celle de l'hématoxyline. Nous avons utilisé diverses différenciations de force croissante, comme : eau, alcool, aniliné alcool doxane et quelquefois des dérivés du glycol.

F) - Détection des lipides liés, par le bleu lumière -

La présence et le rôle des lipides liés dans la rétine sont certains. Nous avons utilisé pour leur détection la coloration au bleu lumière signalée par Karli, et appliquée sur des préparations fixées dans chlorure de platine dans du formol, formol-calcium, liquide de Helly. Les coupes sont colorées pendant cinq à dix minutes dans une solution aqueuse de bleu lumière à 0,5 % préalablement filtrée. Après lavage à l'eau distillée et à l'eau de source on différencie par un mélange d'alcool à 60° avec 10 % de dioxane. Si le différenciateur va trop vite on retarde son action par l'addition d'eau distillée. On monte ensuite la préparation au sirop de sorbitol. (Vilter).

L'ensemble des réactions histochimiques que nous venons de mettre au point, nous a donné des résultats expérimentaux satisfaisants. Nous avons pensé qu'il pouvait favoriser une étude plus précise que celle de nos recherches préliminaires. Aussi avons-nous essayé de les appliquer dans de nouvelles recherches.

III - APPLICATIONS DES NOUVELLES REACTIONS DES PIGMENTS

VISUELS ET DES PRODUITS METABOLIQUES DE LEUR CYCLE

A L'ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA RETINE, CHEZ LE

POISSON ET LA GRENOUILLE - SENSIBILITE DE L'OEIL

ET VISION DES COULEURS.-

Pour mettre nos techniques à l'épreuve nous les avons appliquées sur un matériel nouveau, la rétine du Poisson, que l'on sait être proche de celle de l'Homme et des Mammifères. Nous avons utilisé le Grenilabrus melops L. et le Labrus viridis L., espèces maritimes vivement colorées de notre région méditerranéenne. Nous avons pensé qu'ils pourraient favoriser notre étude avec des lumières colorées parce que nous les supposons posséder des cônes de grande dimension, comme chez beaucoup de Poissons, et des cônes de différentes variétés du fait de leurs vives couleurs.

a)) .- Etude de la formation des images et de leur situation dans la

rétine.-

Dans nos études précédentes nous avons remarqué que les cellules visuelles n'étaient pas décolorées de façon uniforme. A la périphérie et au centre on notait des variations dans les effets lumineux: la lumière ne doit pas éclairer la rétine en plaque uniforme, selon les positions de la source. Pour obtenir de meilleurs résultats nous avons cherché à voir directement la formation des images sur la rétine elle même, et à régler la position de la source.

Dans le but nous avons préparé de façon particulière un oeil de Boeuf. Le globe oculaire est fixé et durci de façon à conserver la transparence de la cornée et des milieux optiques. On enveloppe

l'oeil par des nappes de coton, convenablement disposées et imbibées des fixateurs (formol ou liquide de Bouin). Le lavage sous le robinet, la ~~corpée~~ vers le haut, élimine les substances fixatrices. On amincit la paroi postérieure et on y pratique une fenêtre large d'un centimètre et demi en respectant la ~~choroïde~~ et la rétine. l'oeil convenablement orienté et protégé par du papier noir et du coton humide est placé ensuite devant une lampe électrique de 60 Watts. Un grand porte-écran, destiné à protéger l'observateur des rayons directs placé à 4 cm devant l'oeil étudié.

Dans ces conditions, dans une semi-obscurité on observe l'image de la lampe sur la rétine. Le système ainsi formé correspond à un ~~appareil~~ photographique. Lorsque la lampe est éloignée, l'image se trouve dans la région centrale, assez petite et renversée.

Nous avons recherché la position favorable pour avoir l'image la plus grande et la plus nette possible sur la rétine : elle est aux environs de 25 cm. Sur la rétine assez éclairée, la lampe donne une image constituée par une zone éclairée et diffuse, à l'intérieur de cette dernière s'inscrit de façon détachée l'image brillante des filaments en ligne brisée et inversée. Les cellules visuelles sont beaucoup plus impressionnées dans les zones de grande luminosité par rapport au restant. On voit que toutes les cellules visuelles ne sont pas uniformément impressionnées. La coupe histologique faite dans le plan horizontal par exemple, ~~reflète~~ donc cette disposition. Il existe quelques points très éclairés et d'autres moyennement ou moins éclairés.

Si l'on place maintenant des écrans colorés, les images du filament présentent par rapport à la lumière blanche des variations de dimension et d'épaisseur selon la couleur de l'écran utilisé, il en est de même de la surface lumineuse.

Avec un écran rouge, la zone lumineuse diffuse est assez grande, le filament légèrement flou. On corrige la distance pour avoir une image nette : la largeur du filament a augmenté. Il en est de même pour l'écran orange.

Avec l'écran jaune, on a sensiblement même image et même dimension qu'avec la lumière blanche.

Avec l'écran vert, l'absorption de la luminosité est plus grande, la plage diffuse se rétrécit beaucoup. La largeur du filament diminue et l'image est plus nette.

Avec l'écran bleu, l'absorption est encore plus grande, la zone diffuse est peu visible sur la rétine, et très retrécie, l'image du filament est plus petite et plus nette.

Les images colorées montrent que les lumières rouge et orangé intéressent une plage plus grande de la rétine et un nombre plus élevé de cellules visuelles. Dans le vert et dans le bleu la plage colorée est plus retrécie, les cellules impressionnées sont moins nombreuses et plus fortement éclairées que dans les zones périphériques.

Nous avons complété l'étude par l'examen des optogrammes chez les Poissons. Nous avons éclairé les animaux dans les conditions analogues; tenant compte que leurs yeux sont plus sphériques la source est rapprochée à 15 cm. Après un quart à une demi heure des optogrammes sont pratiqués en plongeant les yeux dans une solution d'alun de potasse formolée, la partie antérieure étant supprimée pour une fixation convenable. On colore "in toto" avec le bleu lumière. Après différenciation on aperçoit, au fond de la cupule colorée en bleu, une sorte d'image blanchie, assez claire, analogue à celle observée avec l'oeil de Boeuf, mais l'image centrale étant décolorée on ne peut distinguer le filament. La zone impressionnée est plus large, pour le rouge, elle occupe toute la région centrale et paracentrale; sur les bords de la cupule la rétine n'est pas impressionnée.

b)).- Etude histophysiologique de la vision, chez le Poisson :

Grenilabrus melops L.- Réponses des bâtonnets et des cônes.

En tenant compte de nos observations précédentes sur l'oeil de Boeuf et sur les optogrammes de Poisson, nous avons expérimenté sur le Grénilabre.

Ce dernier est enfermé et immobilisé dans une cuve parallélipipédique étroite. Le tout est placé dans une cuve plus grande dont trois des parois sont recouvertes de papier blanc. Devant les yeux de l'animal placé tout contre la face libre de la grande cuve, on place à 4 cm le porte-écran et, à 7 cm en arrière, la lampe, cette disposition est destinée à régulariser l'effet lumineux et à augmenter la surface de rétine impressionnée.

I - ETUDE DE LA SENSIBILITE DE L'OEIL - DETECTION HISTOCHIMIQUE DES

SUBSTANCES VISUELLES, LEUR COMPORTEMENT DANS LA RETINE DU

GRENILABRE A LA LUMIERE BLANCHE.-

Avant d'étudier la rétine du Grénilabre avec la lumière, examinons d'abord la rétine du témoin gardé à l'obscurité, et colorée par la méthode nouvelle de la réaction alun-opsine-hématoxyline.

1) Les cellules visuelles de la rétine du Crenilabrus melops L.

La description que nous donnons correspond à des rétines de Poissons gardés toute une journée à l'obscurité. Les animaux sont sacrifiés et les yeux sont prélevés à l'aide d'une lumière rouge foncée. On pratique la fixation au formol, formol aluné et et au liquide de Helly et formol calcium. L'examen des coupes (de 5 μ et de 2 μ pour les cas particuliers), montre chez le témoin une rétine du type suivant (voir fig 13).

La rétine du Crenilabrus melops L. présente de nombreux bâtonnets assez petits de 25 à 30 μ et des cônes de grande taille qui peuvent occuper toute la hauteur de la couche des cellules visuelles épaisse de 130 à 135 μ .

Les bâtonnets se trouvent dans la région allant de la limitante externe jusqu'à la limite des franges pigmentaires, très importantes chez le Poisson, ils se trouvent donc au dessous des pigments et insinués entre les cônes de quatre types.

Avec l'hématoxyline le bâtonnet présente un segment externe bien coloré, long et filiforme il paraît bleu noir. Le segment interne bien coloré, montre à sa partie inférieure un petit ellipsoïde bien coloré qui coiffe le corps intercalaire, la région basale qui correspond à la myoïde est très peu colorée. Le bâtonnet est relié à un noyau situé dans la couche des grains externes sur une rangée plus basse que celle des cônes.

Les cônes, du fait de leur taille ne sont pas tous visibles, une bonne partie sont cachés par les franges pigmentaires. On observe d'abord très bien les deux types de cônes de petite et moyenne dimension, respectivement 20 à 25 μ et 30 à 35 μ environ. Ces cônes possèdent un segment externe coloré en noir, pointu et filiforme et un segment interne plus important, renflé, qui

comprend une petite région ellipsoïdique colorée en noir et une région ovale incolore ou peu colorée (myoïde). Au niveau de la limitante externe, ces cônes sont reliés à des noyaux un peu plus gros que ceux des bâtonnets et placés plus haut.

Le premier cône de 20 à 25 μ est le plus petit, son segment interne mesure 18 μ et le segment externe 5 à 6 μ .

Le deuxième cône de 30 à 35 μ a un segment interne de 20 à 25 μ et un segment externe de 8 à 10 μ .

Les deux autres types de cônes sont beaucoup plus grands, toujours cachés par le pigment. On ne peut bien les voir qu'en dépigmentant la préparation par de l'alun de fer, ou par les méthodes usuelles.

Le troisième cône mesure 75 μ environ, son segment externe est plus long (35 μ) noir et allongé il remonte vers le milieu de la couche des franges pigmentaires. Le segment interne est légèrement plus grand et plus haut que dans le deuxième cône, sa coloration est analogue.

Le quatrième cône est un grand cône, très élancé, il arrive presque vers les cellules pigmentaires. Sa hauteur globale est de 120 à 125 μ environ, il est souvent un peu courbé. Sa largeur est de 3 à 4 μ , son segment externe est bien coloré et mesure 20 à 25 μ . La région ellipsoïdique et le corps du segment interne sont très développés (80 à 90 μ).

Dans cette rétine les bâtonnets sont assez nombreux et petits, et les cônes sont de bien plus grande taille. La rétine du Crénilabre contient 4 types de cône différents par leur forme et leur dimension. Par analogie et sans rien préjuger d'avance de leurs réponses aux lumières colorées, nous désignerons comme pour la Grenouille les plus grands, type I et II et les autres types III et IV.

2) Résultats comparatifs de la détection histochimique des substances visuelles dans la rétine de Crénilabre exposée à la lumière. Nous appliquerons désormais les nouvelles réactions des substances sensibles et des produits métaboliques de leur cycle sur les mêmes lots de rétines fixées avec le fixateur général pour l'étude comparative, réservant l'usage de fixateurs particuliers pour les études complémentaires.

a).- Résultats des détections des protéines par la réaction opsine - alun - hématoxyline (voir fig. (14), (15) (16), (17)

Etudions d'abord la répartition des protéines dans la rétine obscurée.

A un faible grossissement on peut observer sur toute sa surface sous la bande assez homogène, noire, irisée de rouge, formée par la couche de l'épithélium pigmentaire avec ses nombreuses franges, la présence des cellules visuelles : bâtonnets et cônes. Ceux-ci s'enfoncent dans l'intérieur des franges. On les étudie en faisant varier la mise au point ou bien en utilisant des coupes plus fines : (2 μ).

La couche des cellules visuelles apparait dans la réaction opsine Alun-hématoxyline sous la forme d'une bandelette noire et plus ou moins pointillée, dans laquelle on reconnaît vaguement les éléments. Sous cette couche colorée plus faiblement on peut distinguer la limitante externe claire qui la sépare de la couche des grains externes, elle même assez colorée par la présence des noyaux des bâtonnets et des cônes, on reconnaît le plexus externe, et les autres couches de la rétine.

Au fort grossissement on observe dans la couche des cellules visuelles que :

Les bâtonnets sont bien colorés, petits par rapport aux cônes, ils donnent avec leur segment externe coloré en noir une apparence de piquets de clôture, tranchant sur le fond clair des segments internes des cônes. Le segment externe cylindrique et long est bien coloré. La coloration noire traduit la présence de la protéine (opsine) du bâtonnet. Le segment interne est clair, sauf la région de l'élipsoïde légèrement teintée.

Les cônes sont également bien colorés, la réaction opsine-alun-hématoxyline colore leur segment externe. Ces segments se voient bien et facilement sur les cônes du type IV et III. On peut dans les coupes fines suivre les cônes du type I et II et observer par variation de la mise au point, leur segment externe coloré en noir.

Examinons maintenant la rétine éclairée, traitée avec la même réaction des protéines.

Au faible grossissement on peut constater que la large bande formée par l'épithélium pigmentaire et les franges, est foncée et colorée tout comme dans la rétine obscurée. Il en est de même des autres couches des noyaux de la rétine situés sous la limitante externe. Seule la couche des cellules visuelles au dessus de la limitante et en dessous des franges pigmentaires s'est bien éclaircie, et forme sur toute la longueur de la préparation une bande plus claire, bien mise en valeur par opposition avec la couche des grains externes normalement colorés et les franges sombres des pigments. Dans cette zone éclaircie où se trouvaient principalement les bâtonnets, on peut distinguer cependant des points colorés en noir correspondant au segment externe des cônes du type IV et III, et une petite partie de leur ellipsoïde.

Si on examine à un plus fort grossissement : Les bâtonnets sur toute la surface de la rétine, ne sont plus colorés. Leurs segments externes incolores et peu visibles sont devenus "négatifs" à la réaction opsine-alun-hématoxyline, ce qui traduit la sensibilité de la rhodopsine à l'action de la lumière, et la diminution très notable ou disparition de la scotopsine. Les cônes, par contre, restent colorés dans la région des cellules visuelles devenue plus claire par la disparition des bâtonnets. On peut reconnaître alors, avec plus de netteté les cônes du type IV et III, on distingue bien leurs segments externes colorés en bleu-noir, bien que dans la rétine éclairée les pigments descendent légèrement plus bas; certaines franges même viennent les coiffer. Lorsqu'on fait varier la mise au point on peut retrouver la présence des cônes du type II et I qui sont bien colorés dans leurs segments externes, mais noyés dans le pigment. Sur des parties de rétine dissociée nous avons pu étudier encore avec plus de netteté, ces cônes et leurs segments externes fortement colorés par la réaction.

Il résulte donc que la protéine des quatre types de cônes (photopsine) a résisté à l'action de la lumière blanche et a donné une réaction bien positive, tandis que la scotopsine et la rhodopsine des bâtonnets ne sont pas colorées.

L'ensemble de ces deux examens montre donc bien la réponse spécifique des bâtonnets à l'action de la lumière et leur grande sensibilité par rapport aux cônes qui résistent. Notre réaction opsine-alun-hématoxyline serait donc capable de détecter la protéine spécifique de la rhodopsine et de démontrer la grande sensibilité de la rhodopsine.

b). Résultats des détections des caroténoïdes avec le trichlorure d'antimoine (voir fig. I8 et I9)

À un faible grossissement :
on retrouve avec la réaction caroténoïde-trichlorure d'antimoine-fluorone les mêmes faits qui reflètent de façon nette, le rôle des caroténoïdes dans l'action de la lumière sur les pigments visuels des bâtonnets et leurs métabolisme.

A un grossissement plus fort :

La rétine éclairée, montre les parois des vaisseaux sanguins de la choroïde colorées en rouge comme dans la rétine obscurée. La couche des cellules pigmentaires et ses franges sont fortement colorées par le complexe antimoine-fluorone, ce qui traduit leur richesse en caroténoïde. La teneur de l'épithélium pigmentaire et de ses franges a peu varié sous l'action de la lumière. Seule la couche des cellules visuelles a subi une décoloration franche.

Les bâtonnets sont décolorés dans leur segment externe, il en est de même pour les cônes. Les caroténoïdes s'arrêtent au niveau de l'épithélium, et diffusent encore un peu vers les cellules visuelles. Les cônes du type IV et III observables sont légèrement teintés, il n'y a pas à leur niveau une aussi grande résistance qu'avec les protéines. Cette moindre spécificité de la réaction des caroténoïdes viendrait de ce que les caroténoïdes existent dans les cônes aussi bien que dans les bâtonnets et qu'ils ne sont pas plus spécifiques pour les uns, que pour les autres ; sous l'action de lumière, ils sont plus ou moins libérés au niveau des cônes qui sont les moins protégés. Il se pourrait aussi que les cônes du type IV et III soient touchés par la lumière blanche (très proche de la lumière jaune) possédant des radiations rouges. Néanmoins la réaction des caroténoïdes-antimoine-fluorone sur les rétines obscurées et éclairées montre la disparition des caroténoïdes au niveau des bâtonnets.

c) - Résultats des détections des nucléotides par les fluorones

Nous avons appliqué les techniques des fluorones sur les mêmes préparations. (voir fig (20) et (21))

A un faible grossissement, la rétine obscurée montre une bande colorée, presque unie, sous la couche pigmentaire. Elle est constituée par la couche des grains et les cellules visuelles séparées par la limitante incolore. A la lumière, les bâtonnets sont peu visibles, à leur place existe une bande claire entre la zone des pigments et la couche des grains externes. Dans cette bande claire on peut remarquer encore les segments externes des cônes.

Si on observe à un plus fort grossissement, les bâtonnets, dans la rétine obscurée sont positifs, rose orangé, leurs segments externes sont plus fins qu'avec l'hématoxyline.

Les cônes III et IV sont bien colorés dans leurs segments externes et légèrement dans l'ellipsoïde. L'examen des cônes du type II et I est gêné par le pigment brun rouge.

Dans la rétine éclairée, les bâtonnets, peu visibles, sont faiblement teintés et les cônes ne subissent pas de modification.. Nous avons mieux étudié les cônes I et II par des dissociations: les segments externes sont rose orangé.

Normalement les nucléotides sont présents à la fois dans les cônes et les bâtonnets. La décoloration du segment externe des bâtonnets montre que les nucléotides se sont amenuisés, alors qu'ils persistent au niveau des cônes, qui ne sont pas entrés en fonction.

La réaction des nucléotides reflète donc le métabolisme de la rhodopsine en montrant sa sensibilité à la lumière, l'iodopsine étant peu influencée par celle-ci.

d) - Résultats des détections des polysaccharides par la réaction Mac Manus. voir fig (22) (23)

La réaction de Mac Manus donne des résultats aussi nets que les réactions précédentes ce qui témoigne de la participation des polysaccharides et des glucides dans la photoréception.

Au faible grossissement, la rétine obscurée montre les mêmes images que pour l'hématoxyline. Les segments externes des cellules visuelles sont colorés en rouge violacé et forment tout le long de la préparation avec les grains externes également colorés, une bande assez uniforme où la limitante externe se distingue à peine. Elle diffère de la rétine éclairée par la disparition nette de la coloration des bâtonnets, et aussi, par un pâlissement général de la rétine, comme si la lumière avait une action spécifique sur les bâtonnets et une autre plus vague sur les noyaux rétinien.

Cet aspect du métabolisme des polysaccharides serait en faveur de leur participation dans la photoréception, par un processus intermédiaire en rapport avec les pigments visuels et le substratum cellulaire.

Au fort grossissement, dans la rétine éclairée, l'examen des segments externes des cônes est encore plus aisé ; la coloration plus élective rouge violacé du segment, tranche sur le fond des pigments et permet une meilleure observation des cônes des types I et II.

e) - Résultats de la coloration signalétique à l'Azan.
(voir fig. 24 et 25)

La coloration à l'Azocarmin montre les mêmes différences. Bien que moins spécifique du point de vue théorique, elle reflète très bien l'activité de la lumière sur les bâtonnets, elle a l'avantage de montrer l'affinité des cellules visuelles non impressionnées pour le colorant, et de permettre en même temps d'examiner les cellules impressionnées ; car, en l'absence des produits azanophiles, le bleu de méthyle se fixe sur le substratum restant en révélant le détail des cytologiques.

L'examen au faible grossissement montre très nettement la disparition des bâtonnets précédemment colorés en rouge dans leur segment externe. Les cônes persistent. Ils sont colorés par l'Azan en rouge orangé dans la région du segment externe et une partie de l'ellipsoïde.

L'examen au fort grossissement montre de très nombreux détails cytologiques qui peuvent aider dans l'étude des réponses des cônes. Avec l'azan, on peut dans les coupes fines, bien étudier le segment externe des cônes I et II noyés dans les pigments, grâce à la coloration rouge assez vif. L'examen comparatif des colorations et réactions montre, que la coloration de l'azan est intermédiaire entre la réaction opsine, alun-hématoxyline et celle au Mac Manus. Il suggère qu'elle colorerait les protéines glucidiques ou glucoprotéines.

f) - Résultats de la coloration des lipides liés, avec le bleu lumière. (Voir Fig. (26) et (27)).

On obtient de très belles colorations des bâtonnets et des cônes avec le bleu lumière.

Dans la rétine obscurée, la coloration est assez élective au niveau des segments externes on retrouve chez le Crénilabre la réponse nette des bâtonnets, et la résistance relative des cônes à la lumière. Sous l'action de la lumière on observe une diffusion des lipides hors du segment externe des cônes analogue mais plus atténuée qu'avec les caroténoïdes. Nous avons émis l'hypothèse que les lipides interviendraient pour favoriser la fixation des caroténoïdes sur le substratum et aider leur récupération par les opsines, ce qui impliquerait leur sensibilité à la lumière, phénomène qui nous paraît confirmé ici.

En résumé : les résultats des diverses réactions histochimiques des pigments visuels et des produits métaboliques montrent de façon concordante la sensibilité des bâtonnets à la lumière blanche et la résistance des cônes. Ces résultats plaident en faveur du rôle prépondérant des bâtonnets pour la vision en lumière blanche.

La sensibilité des bâtonnets doit être rapportée à la rhodopsine par intermédiaire de ses constituants détectés : protéines, caroténoïdes, nucléotides et aussi par les substances métaboliques glucoprotéines, polysaccharides, lipides ; car l'expérimentation montre qu'ils sont en rapport avec la dégradation photochimique du pourpre par la lumière.

Le rôle de ces substances, d'après leur comportement photochimique doit être lié : à la forme de stockage des pigments au mode de liaison du pourpre sur le substratum, et à l'effet photochimique préliminaire de lumière blanche pour détacher les produits spécifiques. Les différences de libération observées seraient conditionnées par l'affinité des opsines pour les caroténoïdes et ces substances. Les résultats des détections histochimiques paraissent traduire ces différences. Du point de vue sensibilité photochimique, les protéines donnent des réponses plus spécifiques que les nucléotides et les caroténoïdes.

L'étude en lumière blanche, fait apparaître de façon claire la sensibilité des bâtonnets. La disparition des bâtonnets permet une meilleure étude des cônes peu sensibles à la lumière. Chez Le Poisson Crénilabre l'étude a permis de constater la présence étonnante et indiscutable de 4 types de cônes, de les décrire, de les classer d'après leur taille et leur forme, de noter leur répartition dans la rétine. Ainsi se trouve encore confirmée l'existence des 4 types de cônes signalée antérieurement chez la Grenouille.

La rétine de Poisson plus proche de celle de l'Homme et des Mammifères, peut contribuer à la connaissance de la vision humaine si nous arrivons à démontrer le rôle des cônes vis à vis des lumières colorées.

II - Etude de la vision colorée chez Le Poisson - Réponses de la rétine du Crénilabre aux lumières colorées.

Nous avons essayé d'appliquer les nouvelles réactions en méthode convergente sur la rétine du Crénilabre. Quatre types de cônes sont présents dans cette rétine. Nous les avons classés par analogie avec la rétine de Grenouille, en allant des plus grands aux plus petits on aura les types I, II, III et IV.

Chez la Grenouille, nous avons remarqué que les cônes de grande dimension étaient sensibles aux lumières de courte longueur d'onde (bleu et vert) et les autres plus petits aux lumières de grande longueur d'onde (jaune, rouge).

Chez le Crénilabre, les 4 types de cônes résistent à l'action de la lumière blanche. Ils n'ont pas exactement les mêmes formes que les cônes de la Grenouille, cependant ils ont des dimensions variables, qui les différencient et les rapprochent vaguement des 4 types de la Grenouille. Nous ne savons pas encore si ces cônes répondront ou non à l'excitation des lumières colorées. Un optogramme d'essai avec la lumière rouge nous a montré une tache claire dans le fond de la cupule. Elle ne nous a pas permis de savoir si la décoloration était due aux cônes. Suivant notre hypothèse de travail, selon laquelle les lumières de courte longueur d'onde devraient agir sur les cônes des types I et II et les lumières de grande longueur d'onde sur les types III et IV, nous avons essayé d'en faire une étude systématique sans rien préjuger des résultats. Nous nous sommes mis pour celle-ci dans des conditions d'irradiation plus physiologiques que dans nos expériences préliminaires sur Rana esculenta L. C'est l'examen comparé des résultats histochimiques des diverses réactions avec les différentes lumières qui nous apportera la conclusion.

I) Conditions de technique pour l'étude des cônes avec les lumières colorées.

Le Poisson est placé dans la cuve dans les mêmes conditions que pour la lumière blanche. Avec les lumières colorées, d'après nos observations précédentes, nous avons tout intérêt à nous débarrasser des bâtonnets gênants pour l'étude des cônes. Les animaux ne seront plus gardés à l'obscurité. La source lumineuse de 60 watts s'est révélée efficace pour décolorer les bâtonnets, sans trop altérer la cytologie de la rétine, aussi l'utiliserons-nous en l'associant avec une seul écran coloré pour ne pas trop absorber de la lumière et en allongeant le temps d'éclairement (une demi à une heure ou plus, selon la couleur). Pour se rapprocher des conditions de vision photopique, en plus la source colorée principale, l'animal est éclairé indirectement par une lumière blanche (lampe de 100 watts) placée à deux mètres au-dessus de la cuve. Dans ces conditions la lumière colorée principale prédomine. Les écrans utilisés sont des écrans Wratten, Kodak pour le bleu, le vert, le rouge ; pour la lumière jaune nous utilisons des écrans Schott.

Les animaux sont sacrifiés, les yeux sont prélevés, durcis et préparés dans la lumière pour lesquels ils sont exposés, puis la fixation se continue à l'obscurité. L'inclusion et les coupes se font dans les conditions habituelles. Avec la lumière bleue et verte, nous avons utilisé surtout les durées de une heure à une heure un quart, car nous avons vu que les lumières bleue et verte étaient très absorbées par les milieux optiques de l'oeil.

2) Observations histochimiques sur le comportement des cônes du Crénilabre avec les lumières colorées.

Examinons maintenant les préparations histochimiques correspondant aux expériences d'éclairement avec les lumières colorées, et comparons-les avec des rétines témoins de sujets gardés à l'obscurité ou éclairés à la lumière blanche.

a) - Résultats avec la lumière bleue : Ecran Wratten Kodak n° 47.

Les rétines des animaux irradiés avec la lumière bleue ont été étudiés histochimiquement pour le comportement éventuel des cônes vis à vis de la lumière excitatrice par l'intermédiaire des substances composantes ou métaboliques du cycle de l'iodopsine.

1°) Réaction opsine - alun - hématoxyline (voir fig. 28 et 29)

Examinée à un faible grossissement : la rétine de Poisson exposée à la lumière bleue diffère de la rétine témoin obscurée, par la disparition des bâtonnets et un léger affaiblissement de coloration au niveau supérieur de la couche pigmentaire à l'emplacement des segments externes des cônes du type (I). Cette rétine est analogue à la rétine éclairée témoin, par la disparition et la décoloration

des bâtonnets, mais elle en diffère, parce que sa couche pigmentaire est au repos, comme dans la rétine obscurée (même épaisseur) tandis que dans la première les franges pigmentaires descendent plus bas et coiffent les cônes IV et III.

Examinée à un plus fort grossissement : la rétine exposée à la lumière bleue montre peu de bâtonnets. La plupart ne sont pas visibles, mais on en trouve encore en quelques points : certains sont partiellement décolorés, d'autres ont résisté.

L'examen des cônes montre, que le cône du type IV (20 à 25 μ) est bien coloré, on peut observer nettement son segment externe pointu. Son segment interne, peu coloré, est parfois souligné et dessiné par deux reliquats de bâtonnets adjacents non complètement décolorés. Le cône du type III (30 à 35 μ) est plus haut. Il présente une région ellipsoïdique colorée, on distingue nettement son segment externe, assez court et pointu, se terminant dans les franges pigmentaires.

Le cône du type II (60 à 70 μ) est présent, son segment externe (30 à 35 μ) aussi long que son segment interne, est bien visible sur quelques préparations, malgré les franges pigmentaires.

Le cône du type I, dans certaines régions de la rétine, est énergiquement coiffé et entouré par les pigments, il est impossible de distinguer son segment externe. Mais dans les régions où la lumière bleue a provoqué une certaine altération des franges pigmentaires, on peut constater que son segment externe est plus ou moins décoloré.

En résumé, dans les préparations de rétine éclairée avec la lumière bleue avec la réaction des protéines, on ne note pas de variations au niveau des autres cônes. Il existe nettement une réaction pigmentaire qui engaine le cône I. Dans quelques régions où l'effet de la lumière bleue a désorganisé la régularité et la densité des franges, on peut distinguer la décoloration du segment externe du cône I, sa région ellipsoïdique restant colorée. Le cône du type I est donc le plus sensible à cette radiation.

La lumière bleue aurait également un effet sur les bâtonnets.

2) Réaction des lipides, avec le bleu lumière.

Pour préciser la réponse précédente des cônes du type I sans être gêné par la réaction pigmentaire, nous avons, dans la détection au bleu lumière, effectué une coupe de biais sous un angle convenable, pour avoir dans le plan de la coupe, les segments externes des quatre types de cônes.

Dans une telle préparation apparaît un agencement géométrique assez régulier en quatre étages de deux ou trois rangées de segments externes correspondant aux cônes des types IV, III, II et I. On observe une absence de la coloration bleue des lipides dans l'étage supérieur périphérique où devraient se trouver les sections des segments externes des cônes du type I, tandis que les segments externes des autres types de cônes se signalent par une coloration bleu azur.

Dans les coupes normales, les cônes des types IV, III et II sont bien colorés, le type II plus ou moins caché par les pigments.

Les grands cônes du type I peuvent être observés à travers les franges pigmentaires naturellement colorées en brun-orangé, par variation de mise au point. Pour voir le segment externe, on suit le corps du cône I à partir de sa base facilement repérable en remontant vers le segment externe peu visible, bleu très pâle dans les cas les plus favorables où ils sont incomplètement décolorés.

En résumé, la coloration des lipides a montré, comme celle des protéines une réponse analogue des cônes de type I vis à vis de la lumière bleue.

3) Réaction des polysaccharides avec le Mac Manus.

L'observation avec le Mac Manus montre une réponse analogue des 3 premiers types de cône. Pour le cône du type I, la réaction montre dans la partie périphérique de la couche pigmentaire, l'existence d'une coloration de leur segment externe, un certain nombre sont décolorés, leur sensibilité paraît être irrégulière. La décoloration est plus poussée dans les régions où la lumière a le plus agi sur les pigments.

De la comparaison des segments externes, il semble que le cône du type I soit le plus sensible à la lumière bleue.

4) Réaction colorée à l'Azan.

La coloration à l'azan montre les segments externes des cônes des types IV et III colorés en rouge ainsi qu'une partie de leur ellipsoïde. Le cône II dont l'extrémité pénètre jusque dans la partie médiane de la couche pigmentaire, présente un segment externe bien nettement coloré, visible à travers les pigments.

La coloration rouge de l'azan, nette dans les trois types de cônes, traduit leur résistance à la lumière bleue.

La réponse du cône de type I, est traduite par le pâlissement de son segment externe (rose par rapport aux autres cônes ce qui montre sa sensibilité à la lumière bleue).

5) Réaction des nucléotides avec les fluorones.

Cette réaction donne des résultats analogues à ceux obtenus avec l'azan. Le segment externe du cône I présente une coloration rose-orangé bien plus pâle que dans les autres types de cônes.

6) Réaction des caroténoïdes par le trichlorure d'antimoine.

Cette réaction donne une coloration rouge très forte au niveau de la couche pigmentaire où se trouvent cachés les cônes de grande dimension. On ne peut donc observer si la décoloration du cône I a eu lieu.

Avec la lumière bleue la réaction des caroténoïdes, chez le Poisson, de ce fait ne présente pas d'intérêt.

En résumé : au cours de l'éclairement avec la lumière bleue, les méthodes histochimiques donnent les résultats suivants :

La lumière bleue détermine un effet sur les bâtonnets qui sont plus ou moins décolorés.

Au niveau des franges pigmentaires, les pigments réagissent en coiffant l'extrémité du cône du type I, plus rarement celle du cône II. Dans certaines régions la lumière bleue peut désorganiser les franges et permettre l'observation des cônes de grande taille. La lumière bleue agit peu sur les cônes IV et III. Le cône II, peu sensible aussi à cause de la réaction pigmentaire montrerait une certaine sensibilité décelable avec la coloration à l'azan par une faible décoloration.

L'action de la lumière bleue, d'après nos résultats s'exerce principalement, sur le cône I. Des quatre types de cônes il s'est montré le plus sensible.

b) - Résultats avec la lumière verte - écrans Wratten Kodak n° 74 et 58.

Les observations histochimiques ont donné les résultats suivants :

I) Réaction opsine - alun - hématoxyline. (voir fig 30)

Examinée à un faible grossissement, la rétine du Crénilabre rappelle un peu la rétine témoin éclairée par la lumière blanche, mais les franges pigmentaires descendent moins, dans leur région médiane un léger éclaircissement correspond à la région des segments externes des cônes du type II.

Les bâtonnets sont plus nettement décolorés qu'avec la lumière bleue.

Au fort grossissement la mobilisation des grains pigmentaires raréfie la région externe en pigments qui viennent sur les segments externes des cônes I, et surtout II, chez lesquels on note un effet dû à la lumière.

Les bâtonnets décolorés sont retrouvés grâce à leur segment interne légèrement contracté, certaines régions basales sont encore colorées en noir.

Les cônes IV et III, bien colorés dans la région de leur segment externe et de l'ellipsoïde résistent. Les grands cônes noyés dans le pigment ont été étudiés en colorant le fond par le vert lumière. En suivant le cône teinté par le vert lumière, de la base vers l'extrémité on constate que son segment externe est bien coloré en noir par l'hématoxyline.

Différant des trois types de cônes précédents, le cône II, dans les cas favorables où nous avons pu l'observer, présente un fort pâlissement dans son segment externe, qui décoloré prend le vert lumière.

En résumé : La lumière verte est active sur la couche pigmentaire et produit des modifications dans sa région médiane.

Elle agit sur les bâtonnets de façon plus forte que la lumière bleue, et moins que la lumière blanche.

Les cônes IV et III résistent à son action, le cône I est protégé par les franges pigmentaires.

Le cône II est le plus sensible des trois. Nous avons pu observer la décoloration de son segment externe.

2) - Coloration des lipides avec le bleu lumière.

Cette coloration montre les mêmes résultats sauf qu'on trouve un certain nombre de cônes du type II échappés à l'action de la lumière et encore colorés.

3) - Réaction des polysaccharides au Mac Manus.

Nous avons trouvé des résultats analogues. Le segment externe du cône II a pâli, mais sa faible coloration persiste. Les autres types de cônes montrent une résistance marquée. Par dissociation mécanique nous avons pu les voir à l'état isolé avec des segments fortement colorés, tandis que le cône II a tendance à se fragmenter lors des dissociations. Sa décoloration complète n'a pu être

établie avec certitude. On ne peut retenir que son pâlissement relatif.

4) - Coloration signalétique à L'Azan.

Cette coloration montre les mêmes résultats au niveau des cônes. Signalons que le cône I est discrètement touché par la lumière verte, le cône II a fortement pâli, son segment externe reste cependant coloré. Au fort grossissement ce segment présente des fragmentations internes.

5) - Réaction des caroténoïdes par le trichlorure d'antimoine

La réaction montre la sensibilité des bâtonnets qui ont disparu. La forte coloration des franges pigmentaires gêne l'observation. Il a été possible de constater que le segment externe du cône I est coloré. Avec cette réaction on ne peut observer la décoloration du cône II.

En résumé : l'ensemble de nos réactions convergentes montre au cours de l'éclairement avec la lumière verte une décoloration et un pâlissement des cônes du type II et une légère atteinte du type I. La présence des pigments nous a gêné pour observer la réponse du type II. Les dissociations mécaniques n'ont pas donné de meilleurs résultats, nous avons pu cependant apporter une preuve très nette de la sensibilité particulière du cône en dépigmentant l'épithélium. La réaction opsine-alun-hématoxyline après cette dépigmentation perd de sa valeur histochimique par la dénaturation poussée des protéines qu'elle colore alors. Elle a permis cependant de révéler au niveau du segment externe du cône II des modifications cytologiques apportées par la lumière verte, car il est le seul de tous les cônes à présenter une fragmentation de son segment externe dans la rétine du Poisson. Ce résultat explique l'échec des dissociations mécaniques, le segment externe étant déjà brisé auparavant (voir fig. 31)

L'image obtenue après dépigmentation nous paraît la plus convainquante de toutes, et, si on l'associe avec les autres réactions qui montrent son pâlissement, il se révèle que les cônes du type II auraient une sensibilité plus spécifique pour la lumière verte. Signalons toutefois que le cône du type I a parfois légèrement pâli.

c) Résultats avec la lumière jaune - Ecrans Schott OG1, OG2 et jaune.

Par sa luminosité, la lumière jaune est proche d'une lumière blanche, mais nous l'avons étudiée systématiquement pour voir si on n'obtenait pas de réponse particulière au cours des réactions.

I) Réaction opsine alun hématoxyline. (Voir fig. 32 et 33).

Au faible grossissement : l'examen montre que la lumière jaune a un effet plus ou moins variable sur la couche pigmentaire. La couche des cellules visuelles montre la disparition de la plupart des bâtonnets.

Dans la zone des cellules visuelles, à la hauteur des segments externes des cônes IV et des ellipsoïdes des cônes III et II (de 18 à 30 μ à partir de la limitante), avec la lumière jaune, apparaît assez nettement une ligne noire, pointillée sur toute la longueur de la préparation. Elle est due à l'éclaircissement des parties sensibles existant à ce niveau et situées plus haut que la ligne pointillée. L'apparition de cette ligne, caractérise l'effet de la lumière jaune car elle n'existe pas dans la rétine obscurée, ou précédemment éclairée.

A un plus fort grossissement : la ligne noire pointillée résulte de la disparition d'un élément sur deux, alternant régulièrement dans la partie supérieure contre la couche des pigments.

L'élément qui est resté coloré est l'ellipsoïde du cône II. La partie décolorée correspond à la partie supérieure du cône III, c'est-à-dire à son segment externe. Ce cône se reconnaît par son ellipsoïde, encore colorée et située à 18 - 20 μ de la limitante au même niveau que le segment externe coloré du cône IV.

La lumière jaune décolorerait donc le cône III dans son segment externe, ce qui se traduit au fort grossissement, par l'alternance décrite, et au faible grossissement par l'apparition de la ligne pointillée noire située au-dessous.

L'élément sensible à la lumière jaune est le cône III; certains cônes du type IV présentent le long de la préparation une certaine sensibilité.

2) - Détection des lipides par le bleu lumière.

On retrouve avec le bleu lumière que les cônes I et II sont bien colorés dans leur segment externe. Leur coloration bleue paraît à travers les pigments. Le cône du type IV présente aussi un segment externe coloré. L'action de la lumière jaune se reconnaît ici par l'alternance assez régulière des éléments III et II décrite au fort grossissement. Cette alternance confirmerait la sensibilité des cônes du type III.

3) - Réaction des polysaccharides avec le Mac Manus.

Avec la détection des polysaccharides, la sensibilité du cône du type III est plus limitée, on observe un pâlissement sans décoloration complète.

4) - Coloration signalétique à l'Azan.

Les préparations montrent la même décoloration au niveau du type III avec conservation de la coloration des trois autres types de cônes peu sensibles à la lumière jaune.

Dans une préparation nous avons eu la chance d'avoir la présence, côté à côté à côté, par ordre de taille croissante, des quatre types. Sur ce bouquet des quatre éléments colorés en rouge, seul le segment externe du type III est décoloré par rapport aux autres. Au niveau du cône III, décoloré par la lumière jaune, on voit grâce au bleu de méthyle du colorant qui le teinte alors des modifications cytologiques dans la région basale et de la myoïde dues à l'éclairement, et non observées au niveau des autres cônes.

5) - Détection des nucléotides par les fluorones.

On retrouve le même phénomène de l'alternance des types II et III, ce dernier est moins coloré par les fluorones.

Le type IV apparaît plus ou moins sensible.

6) - Réaction des caroténoïdes au trichlorure d'antimoine.

Cette réaction n'est pas très caractéristique avec la lumière jaune, elle montre surtout une forte coloration de la zone pigmentaire. Au niveau des cellules visuelles, on ne peut trouver de réponse caractéristique.

En résumé : la lumière jaune paraît avoir une action sur les franges pigmentaires. Les grains de pigments se mobilisent pour se mettre en contact de façon variable avec les quatre types de cônes.

Les bâtonnets sont très sensibles à la lumière jaune, mais moins qu'à la lumière blanche dans nos conditions.

Au niveau des cônes, la lumière jaune montre plus particulièrement la sensibilité des cônes du type III dont la décoloration

fait apparaître, au faible grossissement, la ligne noire sous-pigmentaire, et, au fort grossissement,

le phénomène d'alternance résultant de la décoloration d'un des éléments des cônes ; c'est-à-dire le segment externe des cônes du type III.

Les résultats qui montrent le mieux cette sensibilité (décoloration et modification cytologique) sont les réactions opsine - alun - hématoxyline, la coloration à l'azan, au bleu lumière, puis vient la réaction des caroténoïdes qui est la moins caractéristique.

d) - Résultats avec la lumière rouge : écran Wratten Kodak N° 25.

La lumière rouge de longueur d'onde plus grande est moins absorbée par les milieux de l'oeil. Elle donne sur la rétine un éclairage plus diffusé, moins brillant au centre.

L'examen des préparations a montré les résultats suivants :

I°) - Réactions opsine - alun - hématoxyline. (Voir fig. 34 et 35).

Au faible grossissement : la lumière rouge paraît provoquer peu de perturbation dans la couche pigmentaire qui reste analogue à celle de la rétine obscurée.

Au-delà des pigments, dans la couche des cellules visuelles, il y a un éclaircissement, le long de la préparation, résultant surtout de la décoloration des bâtonnets et cônes les plus bas. Cette zone rappelle celle trouvée dans la rétine éclairée, mais ici, c'est la partie inférieure proche de la limitante qui est plus claire.

Un plus fort grossissement permet de distinguer, dans cette zone, un étage supérieur (18 - 30 μ) coloré et pointillé, formé par les éléments des cônes II et III que la réaction des protéines a colorés, et d'un étage inférieur (0 - 18 μ) au niveau des segments externes des cônes IV et des bâtonnets. C'est cet étage qui s'est bien éclairci. Les bâtonnets ont été décolorés, pour la plupart. Le cône du type IV est contracté (15 à 16 μ au lieu de 20 - 22 μ) son segment interne est plus ventru, sa région ellipsoïdique est noire mais son segment externe est décoloré. La décoloration n'est pas générale, un certain nombre irrégulièrement répartis, possèdent encore des segments externes colorés.

Dans l'ensemble, dans la rétine éclairée à la lumière rouge, c'est le cône IV qui manifeste le plus sa sensibilité par la décoloration de son segment externe et son état contracté ; les autres cônes résistent et sont bien colorés. On peut noter qu'ils sont en outre protégés par les pigments qui s'ordonnent autour de leur segment externe.

2) - Détection des lipides par coloration au bleu lumière.

Avec la coloration du bleu lumière l'étude des détails montre que les cônes I, II et III possèdent des segments externes bien colorés. Le cône IV a pâli dans l'ensemble. Certains sont bien décolorés, d'autres résistent encore, mais la coloration de leur segment externe est plus légère que dans les autres cônes. Sur des préparations de bleu lumière plus différenciées la décoloration relative du type IV est plus nette.

3) - Détection des polysaccharides par la réaction de Mac Manus.

La réaction de Mac Manus vert-lumière montre les mêmes résultats que ci-dessus, cependant on note la particularité suivante : dans les régions où la lumière rouge a joué, le segment externe des cônes IV est vert violacé, tandis qu'il est rose franc chez les autres types de cônes.

La sensibilité du cône IV est traduite par la différence de coloration du segment externe (le vert a pu se fixer sur le segment impressionné). La coloration par le vert lumière des segments internes montre bien l'état contracté de ce cône avec la lumière rouge.

4) - Coloration signalétique à l'Azan.

Cette réaction montre la décoloration du segment externe du cône du type IV, totale dans les régions favorables, partielle ailleurs; on note en plus dans leurs segments internes une décoloration de la substance ellipsoïdique par rapport aux autres cônes.

5) Réaction des nucléotides avec les fluorones -

La réaction des fluorones montre les mêmes faits : sensibilité du cône IV à la lumière rouge, elle étend un peu son effet sur le cône du type III déjà entrevu avec la coloration à l'azan.

En résumé : Avec la lumière rouge les réactions nous montrent la sensibilité des bâtonnets d'ailleurs moindre que pour les autres couleurs. La couche pigmentaire, en gros, ne subit pas de modification. La lumière rouge agit sur le cône IV surtout, qui montre une décoloration plus ou moins nette de son segment externe, un état plus ou moins contracté, une légère atteinte de sa substance ellipsoïdique. La lumière rouge peut agir aussi sur le cône du type III.

III) - Résumé de nos observations sur la vision du Poisson.

Sensibilité de l'oeil et vision des couleurs.

De l'expérimentation et de l'étude histochimique des réponses des bâtonnets et des cônes de la rétine du Crénilabre, il résulte que :

Les bâtonnets sont très sensibles à la lumière blanche et dans les conditions de vision scotopique, assez sensibles aux lumières colorées. Cette sensibilité se retrouve à travers toutes nos réactions histochimiques convergentes. L'action de la lumière est traduite surtout par la réaction des protéines (opsine - alun- hématoxiline). Lumière et réaction démontrent les propriétés biologiques de la rhodopsine par l'intermédiaire de la scotopsine.

Il en est de même des autres substances, qui contribuent au cycle de la synthèse du pourpre.

Pour la vision des couleurs, les réactions de détection des substances des cônes (plus résistants à la lumière blanche) montrent des modifications cytologiques et physiologiques au niveau des quatre types.

Il se confirme par l'analyse systématique des réponses à travers les différentes réactions histochimiques, que les cônes interviennent dans la vision des couleurs.

Le cône du type I est plus sensible à la lumière bleue, et plus résistant aux autres couleurs.

Le cône du type II, avec la lumière verte, est celui qui a donné les réponses les plus nettes et des modifications les plus importantes.

Pour ces deux couleurs, nos sources étant plus faibles, nous avons utilisé une durée d'éclairement plus longue.

Le cône III est sensible à la lumière jaune. On peut obtenir des réponses avec une durée plus faible (une demi heure seulement).

Le cône du type IV est sensible à la lumière rouge ; sa décoloration partielle et irrégulière, visible dans les préparations des diverses réactions, montre qu'avec la lumière rouge il faudrait un temps plus long pour obtenir une décoloration plus franche.

L'expérience chez les Poissons (Crénilabre) montre que nos techniques possèdent une valeur histochimique à condition que les modifications expérimentales recherchées soient atteintes, et que les substances étudiées soient présentes ou conservées. Les techniques ne peuvent révéler que l'état et la constitution des substances au moment final de l'expérience.

L'expérimentation physiologique et l'étude histochimique systématique chez le Poisson (Crénilabre), matériel nouveau pour nous, a permis de montrer chez ce dernier, l'existence indiscutable de quatre types de cônes, comme chez la Grenouille ce qui plaide en faveur de l'existence chez d'autres vertébrés d'un système de vision tétrachromatique, les cônes du Crénilabre étant démontrés sensibles aux quatre couleurs : bleu, vert, jaune et rouge.

L'hypothèse de travail formulée dans nos premières observations chez la Grenouille : les lumières de courte longueur d'onde agissent sur les cônes de grande dimension, les lumières de grande longueur d'onde agissent sur les éléments les plus courts - se trouve donc confirmée par l'étude de la rétine du Crénilabre.

C) - Etude de l'Histophysiologie de la vision chez la Grenouille
(*Rana temporaria* L.).

Réponse des bâtonnets et des cônes sous l'action de la lumière
blanche et des lumières colorées.

Pour vérifier encore les résultats étudiés chez le Grénilla-
bre dans des conditions plus physiologiques que dans nos premières
recherches chez *Rana esculenta* L. nous appliquerons ces conditions
et techniques nouvelles sur une Grenouille d'une autre espèce :
Rana temporaria L.

I - Etude des cellules visuelles de *Rana temporaria* L.

La rétine de *Rana temporaria* L. gardée à l'obscurité et
fixée au formol ou au liquide de Helly, montre à l'examen une
couche de cellules visuelles qui s'étend de la limitante externe
jusqu'à l'épithélium pigmentaire sur une épaisseur moyenne de 50 à
60 μ . On y trouve des bâtonnets et des cônes.

Les bâtonnets éléments cylindriques et parfois en forme de
massue, mesurent 45 à 50 μ de long sur 6 à 8 μ de large. Dans le
bâtonnet classique le segment interne a une hauteur de 12 à 18 μ ,
le segment externe 40 μ environ. Dans le bâtonnet massue ce segment
externe est plus réduit et le segment interne monte beaucoup plus
haut, (25 à 30 μ) il débute par une partie cylindrique (2 à 3 μ)
pour se renfler et atteindre la largeur du bâtonnet. Dans la colo-
ration à l'hématoxyline cette région, au contact du segment externe,
est colorée en noir, que ce soit à l'obscurité ou à la lumière. A
l'obscurité le segment interne du bâtonnet classique se trouve à
des hauteurs plus ou moins variables (12 à 18 μ).

A la lumière la hauteur de ce segment externe diminue, elle serait
de 10 à 12 μ au maximum.

Le bâtonnet est relié à un noyau qui se trouve placé contre la limi-
tante externe, et même la soulevant quelquefois.

Les cônes plus petits et peu enfoncés dans la couche des pigments
descendent entre les bâtonnets. On peut, chez *Rana temporaria* L.,

distinguer aussi quatre types de cônes répartis entre la limitante externe et le milieu de la couche des cellules visuelles, puisque les plus grands peuvent atteindre près de 30 μ .

Le cône du type IV a la forme d'un gland ou d'une marmite coiffée d'un ellipsoïde, et d'un segment externe et pointu. Il a une hauteur moyenne de 10 à 12 μ et sa largeur est de 8 μ . Sa partie basale renflée est claire par rapport à la région de l'ellipsoïde et du segment externe colorée en noir par l'hématoxyline. Il est relié à un noyau assez régulièrement arrondi ou ovale, placé beaucoup plus bas que celui des bâtonnets, sa position dans la couche des noyaux est légèrement médiane, par rapport à la limitante externe et la couche des plexus.

Le cône du type III est un cône fin et allongé, il mesure (de 12 à 15 μ de hauteur). Il est constitué par un segment externe pointu et mince, un corps intercalaire ovoïde (de 5 à 6 μ de long sur 3 de large) et par une myoïde cylindrique et allongée (6 μ de haut). Il est coloré en noir dans son segment externe et dans la région du corps intercalaire et sa myoïde est peu colorée. Il est relié à un noyau arrondi ou ovale, situé approximativement au niveau du noyau du type IV. Ce cône peu visible, est souvent caché, soit par le segment interne des bâtonnets, soit par les éléments des autres cellules visuelles. Il ne possède pas de vacuole ou exceptionnellement une petite, et il ne dépasse jamais le segment interne du bâtonnet.

Le cône du type II, plus grand, à la forme d'une bouteille plus ou moins ventrue. Il a 20 à 22 μ de hauteur sur 4 à 5 μ de large. Il est constitué d'un segment externe pointu relié au corps intercalaire par l'ellipsoïde, et d'une myoïde tantôt large, tantôt fine.

A l'hématoxyline, le segment externe est coloré ainsi que la région de l'ellipsoïde. Dans sa partie supérieure on note une grosse vacuole nettement visible. La hauteur seule de l'élément ne peut suffire pour la caractériser, car sous l'action des différentes lumières, il peut se contracter ou s'allonger. Après de nombreuses observations, le critère le plus intéressant est donné par la position de la vacuole. Cette position peut varier légèrement dans l'élément mais en général, elle est située au dessous, ou au maximum au niveau de la partie supérieure du segment interne du bâtonnet qu'elle ne dépasse pas. La longueur de ce dernier varie souvent dans le même sens, si bien que le rapport de position reste constant, ce qui permettra, de les différencier des cônes du type I.

Le cône du type I est allongé, de même largeur que les autres. Il est formé d'un segment externe pointu et long, d'une région intercalaire moins ovale, cylindrique, et d'une myoïde non rétrécie.

A l'hématoxyline le segment externe est coloré, l'ellipsoïde également, il présente à sa partie supérieure une vacuole nette, légèrement plus petite que dans le type II. La myoïde est peu colorée.

C'est le plus grand des quatre types de cônes, il atteint 25 à 30 μ son segment externe pénètre jusqu'au milieu des bâtonnets et dans la région des franges pigmentaires.

La position de la vacuole de cet élément est intéressante et servira à sa détermination car elle dépasse toujours la partie supérieure du segment interne des bâtonnets.

Il est relié à un noyau, gros, allongé, piriforme et parfois disymétrique qui rappelle celui du type II situé à son voisinage légèrement plus haut.

Dans la rétine de Rana temporaria L. on voit des associations de cônes peut-être plus fréquentes, que chez Rana esculenta L.

Les cônes jumelés ou associés sont formés par le couplage, le plus fréquemment du type IV et du type I. Ils sont disposés assez régulièrement dans la rétine. Cette formation montre souvent le cône du type IV situé en avant du type I ou souvent déjeté sur le côté. Ces cônes sont séparément reliés à deux noyaux distincts qui s'accolent. Dans l'association la plus parfaite, les deux noyaux sont situés à peu près au même niveau et donnent l'aspect d'un coeur plus ou moins symétrique.

Nous avons étudié le rapport de ces deux noyaux dans de très nombreux cas d'association.

Dans un cas on peut voir que les noyaux sont encore très séparés, ils ressemblent à ce moment respectivement à leur forme d'origine que l'on peut trouver quelquefois à leur voisinage. Le noyau du grand élément du cône associé est analogue à celui du cône isolé du type I, fusiforme ou piriforme et légèrement disymétrique, il est plus proche de la couche des plexus. Le noyau du petit élément est arrondi

et ressemble à celui du cône simple du type IV, il est plus médian, plutôt ovale qu'arrondi.

Dans un autre cas nous avons trouvé des formes d'association intermédiaires, où le noyau du grand élément s'est rapproché du noyau associé, à ce moment on a une figure de coeur disymétrique et l'élément le plus bas lorsqu'on le suit dans la préparation apparaît comme celui qui aboutit au grand élément du type I.

L'accolement des noyaux, même dans les cas d'association les plus parfaits n'entraîne pas leur fusion et chacun possède sa relation particulière avec le cône correspondant.

Le noyau du cône I par sa forme et sa position intermédiaire rappelle le noyau du type II, mais ce dernier est allongé, piriforme et plus symétrique.

Parfois, parmi les cônes associés du type (IV et I) on peut rencontrer à la place de l'élément I, un élément du type II, plus court et à vacuole plus basse. L'association des noyaux est en général plus disymétrique.

La présence simultanée des éléments isolés des types II et I et leur association dans la même rétine, montre la possibilité d'une association en vue d'une perception plus fine des couleurs. Svaetichin, (1956) avec des méthodes électriques, avait déjà signalé la présence de signaux colorés, plus nette et plus démonstrative avec les cônes associés qu'avec le cône simple (light cone) qui répond surtout dans le jaune ou jaune-vert.

Nous avons vu, dans nos expériences préliminaires, que l'association des cônes ne leur fait pas perdre leur sensibilité primitive pour les couleurs, puisque les cônes de type I, seul ou associé, donnent le même pâlissement ou décoloration. L'association doit améliorer la perception des couleurs et permettre des différenciations nouvelles. Lorsque les cônes doubles sont nombreux il semble qu'il y ait une diminution des cônes simples en particulier des types I et II.

II - Etude de la sensibilité de la rétine de la Grenouille Rana- ----- temporaria L. à la lumière blanche. -----

I). Conditions de technique.

Les Grenouilles sont placées dans des conditions identiques

d'éclairage : lampe de 60 watts, distance de 15 cm entre les yeux et la source, le porte-écran à 5 cm environ devant l'animal. La durée d'exposition est de une demi heure et surtout de une heure. Au cours de l'expérience les Grenouilles cherchent souvent à s'échapper de leur appareil de contention, ce qui montre que pour ce laps de temps le test d'activité a été atteint.

2). - Résultats comparatifs de la détection histochimique des substances visuelles et métaboliques de la rétine de Grenouille exposée à la lumière.-

L'étude des substances sensibles comme la rhodopsine des bâtonnets est surtout basée sur la disparition de celle-ci sous l'action de la lumière. Cette disparition est relevée par l'observation de rétine obscurée et de rétine éclairée, traitées par les diverses réactions histochimiques.

a) Dans la rétine obscurée de Rana temporaria L., nos diverses réactions histochimiques ont donné des résultats convergents avec la détection des protéines, des nucléotides, des caroténoïdes et des substances métaboliques (lipides, glucides).

Rappelons cependant qu'avec la réaction opsine-alun-hématoxyline les bâtonnets et les cônes sont colorés en bleu-noir dans leur segment externe. En plus du segment externe, la partie supérieure du segment interne est colorée par la réaction, cette partie colorée ne contient pas de rhodopsine et n'est pas décolorée par la lumière.

Dans la rétine obscurée, les pigments sont ramassés dans la région supérieure et ne descendent pas sur les cônes, malgré ce, les segments externes des cônes sont assez difficiles à distinguer. Les cônes des quatre types sont plus ou moins cachés par les bâtonnets, gros et nombreux. Pour bien observer les différents types, on a intérêt à dissocier légèrement la rétine. On peut alors étudier plus facilement leurs segments externes et leur position vis à vis du segment externe ou interne des bâtonnets et apprécier soit leur allongement soit leur rétraction.

La réaction opsine-alun-hématoxyline (fig. 36) colore bien les protéines des bâtonnets et des cônes. Elle permet l'étude des segments externes, et internes, ainsi que le rapport des cellules

visuelles des deux types avec leur noyau respectif. Il en est de même pour la coloration signalétique à l'azan qui donne de très belles colorations orangé vif des segments externes et des noyaux. Les fluorones, le bleu lumière, le trichlorure d'antimoine, montrent respectivement la présence des pigments visuels et les substances de leur cycle.

b) Si on compare la rétine obscurée avec la rétine "lumière" de Rana temporaria L. on aperçoit la décoloration élective des bâtonnets dans leur segment externe, tandis que les cônes résistent. (fig. 37)

Le bâtonnet "massue", ou bâtonnet "vert" se décolore moins, son segment externe, teinté encore par la réaction de l'opsine-alun-hématoxyline fait suite à son segment interne, fin à la base, et s'élargissant à sa jonction. Cette portion de segment, colorée en noir, ne contient pas de rhodopsine.

Du point de vue histochimique, il se confirme donc bien que la réaction opsine-alun-hématoxyline, met en évidence la protéine (scotopsine) du pigment visuel sensible à la lumière, et la protéine de l'iodopsine plus résistante. Les protéines non spécifiques du segment interne restent toujours colorées dans les conditions où la photopsine a disparu.

Dans la rétine éclairée, on est frappé, à première vue, par l'éclaircissement presque total de la zone des bâtonnets, limitée : en bas, par la couche des cônes et le restant des segments internes encore colorés des bâtonnets, en haut par l'épithélium pigmentaire avec de rares noyaux ; seules, de fines franges pigmentaires insinuées entre les segments externes des bâtonnets, descendant plus bas que dans la rétine obscurée, signalent leur présence morphologique en dessinant leurs contours. Le segment externe des bâtonnets présente tous les aspects de l'effet de la photolyse. Il est gonflé ou dilaté, sinueux, et parfois normal.

De place en place des bâtonnets "massue" ou "vert" manifestent leur existence et leur moindre sensibilité par la coloration plus sombre de leur segment externe situé à des hauteurs diverses, et surtout par leur portion de segment interne bien colorée, non modifié par la lumière.

Les mêmes résultats photochimiques, se retrouvent au cours des diverses réactions.

Avec la coloration à l'azan, par exemple, la décoloration des segments externes des bâtonnets est très nette et tranche sur le rouge vif des segments externes des cônes.

Avec le bleu lumière, les segments externes des cônes sont bleus, ceux des bâtonnets sont décolorés.

Avec le Mac Manus, les polysaccharides sont mis en évidence ; les segments externes des cônes sont rouge violacé, certains bâtonnets "massue" rose pâle.

Avec les fluorones, les nucléotides rose orangé s'observent de manière analogue.

La réaction du trichlorure d'antimoine met en évidence les caroténoïdes au niveau des cônes. Sous l'action de la lumière, leurs caroténoïdes semblent avoir subi une certaine transformation. Car ils y sont à l'état de traces, tandis qu'ils présentent une réaction positive sur les pigments et les vaisseaux. Ce fait rappelle ce que nous avons constaté chez le Poisson et on peut se demander si sous l'action de la lumière, il n'existe pas un certain effet photochimique qui, tout en ne modifiant pas leur molécule, leur fait perdre un peu de leur affinité pour le trichlorure d'antimoine.

Avec l'éclairement d'une heure (lampe de 60 watts) on voit que les bâtonnets sont décolorés de façon énergique et peuvent même être altérés. Certains bâtonnets "massue" gardent encore leur substance photochimique, qui est moins sensible (cas intermédiaire entre celui des bâtonnets et des cônes).

Les cônes ne sont pas modifiés par la lumière. Cette différence de comportement vient de leur moindre sensibilité, en relation avec les substances : protéiniques (photopsine), nucléotidiques, glucoprotéiniques, tandis que les lipides et les caroténoïdes paraissent plus ou moins modifiés par la lumière.

En résumé, la sensibilité de l'oeil vis à vis de la lumière est principalement liée à la fonction des bâtonnets typiques. Cette vérification chez Rana temporaria confirme les résultats obtenus chez le Poisson, nos réactions convergentes montrent bien les propriétés photochimiques de la scotopsine, et rhodopsine et aussi la sensibilité des bâtonnets à pourpre rétinien de type classique.

Les divers bâtonnets "massue" encore observés, paraissent jouer un rôle particulier.

III. - Etude de la rétine de Grenouille : Rana temporaria L. -

Vision des couleurs et réponses des cônes aux lumières

colorées.-

Nous avons revérifié la fonction des cônes vis à vis des lumières colorées chez la Grenouille Rana temporaria L. avec l'application systématique de nos réactions. Les conditions d'expérimentation et d'éclairage sont les mêmes que pour la lumière blanche précédente, et pour les lumières colorées du Crénilabre. Les écrans colorés sont placés sur le porte-écran. En plus des lumières colorées données par les écrans Wratten-Kodak et Schott, nous avons utilisé la lumière jaune à vapeur de sodium avec un éclairement de 10 minutes, sans lumière blanche associée.

a).- Résultats des réponses de la rétine de Rana temporaria L. avec la lumière bleue (écran Wratten Kodak n° 47). (fig 38-39)

Avec la lumière bleue dans les conditions d'éclairage photopique, on observe dans la rétine sur le fond formé par les bâtonnets plus ou moins décolorés, la présence des cônes dans la zone basale des cellules visuelles. Ils sont plus ou moins alternés avec le reliquat coloré des bâtonnets (segment interne), tandis que les franges pigmentaires descendues plus bas, dessinent leurs contours.

Si on observe une préparation traitée par la réaction opsi-ne-alun-hématoxyline, on constate que les bâtonnets décolorés sont tantôt contractés, tantôt allongés. Le segment interne, normalement aux environs de $15\ \mu$ varie ici ($10\ \mu$ à 18 ou $22\ \mu$). De même pour le diamètre du segment externe.

Dans cette préparation on voit bien les cônes et leurs modifications.

Le type IV, petit cône court et ventru a peu varié dans ses dimensions. Il présente toujours une partie basale ventrue et claire et une partie supérieure conique, bien colorée, terminée par le segment externe. Il serait plutôt un peu plus allongé.

Il en est de même du cône du type III, petit et fin, il garde son allure générale : 15 à 18 μ , avec une myoïde allongée, une région intercalaire ovale et un segment externe pointu et normalement coloré. Le cône du type II est contracté à la lumière bleue, sa hauteur totale est de 18 μ au lieu de 22 μ ; sa vacuole, normalement située dans la partie supérieure du segment interne dans la rétine obscurée, se trouve ici à 7 ou 8 μ au-dessus de la limitante et bien au-dessous de la partie supérieure du segment interne du bâtonnet. Le segment externe du cône II est cependant coloré en noir bleuté, cette coloration positive se retrouve dans toutes les préparations. Parfois on note un léger pâlissement du segment externe de quelques éléments, mais il est encore très visible. La lumière bleue paraît le faire contracter et exceptionnellement peut agir sur lui. Le phénomène le plus important avec la lumière bleue s'observe au niveau du cône du type I qu'il soit seul ou jumelé. L'élément I associé, (le plus fréquent chez Rana temporaria L.) apparaît contracté, il ne mesure plus que 20 à 25 μ au lieu de 30 μ . Son segment externe est souvent totalement décoloré, parfois on le distingue vaguement, il est difficile alors de chiffrer exactement sa hauteur. Grâce à la position de la vacuole (normalement toujours bien au-dessus du segment interne du bâtonnet et descendue maintenant à son contact (18 - 22 μ)) on peut se rendre compte de son état de contraction. Le cône du type I est le cône le plus sensible à la lumière bleue, il est bien décoloré dans la région centrale et paracentrale de la rétine. A la périphérie et à l'extrémité de celle-ci, il ne subit pas l'effet de la lumière comme nous l'avons vu dans l'étude de la formation des images et dans l'optogramme. On le retrouve alors bien coloré avec une vacuole haute. Sa hauteur de 30 μ montre qu'il n'est pas contracté.

La lumière bleue, active sur le pourpre rétinien, l'orangé transitoire et ses dérivés, agit bien ici sur la substance des cônes (iodopsine), et surtout sur celle du cône I, plus faiblement du cône II. Cette action doit porter sur sa liaison protéique, comme le révèle la réaction opsine-alun, ce qui impliquerait pour ce cône une constitution iodopsinique plus riche en orangé transitoire, proche de celle de la rhodopsine.

Avec la coloration signalétique à l'azan, on retrouve avec autant de netteté la réponse du type I et aussi le léger pâlissement du cône II.

Avec la détection des lipides par le bleu lumière, s'observe de même la décoloration du segment externe du cône I, mais on note aussi une légère baisse au niveau des autres cônes.

Les autres réactions de Mac Manus, des nucléotides, des caroténoïdes montrent en gros le même phénomène, mais pour les polysaccharides et caroténoïdes les réponses sont moins nettes.

En résumé la lumière bleue agit plus spécifiquement sur les liaisons du pigment des cônes, surtout du type I, en touchant plus particulièrement les liaisons protéiniques (photopsine) et glucoprotéinique, démontrées par la réaction opsine-alun-hématoxyline, et l'azan. Elle serait moins spécifique sur les dérivés du cycle comme les caroténoïdes, les lipides, les polysaccharides et les nucléotides. Comme la lumière bleue est active sur les dérivés type orangé transitoire, ce résultat suggère qu'au niveau des cônes I et peut être II, la substance des cônes serait plus riche dans sa molécule en dérivés de cette nature, proches du pigment maculaire et aussi proches de la substance des bâtonnets.

Du point de vue physiologique, on peut considérer que le cône du type I, seul ou associé est sensible particulièrement à la lumière bleue, le cône II serait légèrement sensible, à moins que l'écran bleu laisse passer un peu de lumière verte. Les autres cônes IV et III ne subissant pas de modifications au niveau de leurs segments externes ne seraient donc pas sensibles. Ce que nous avons vu dans nos premières recherches avec les fluorones chez Rana esculenta L., ensuite retrouvé avec de nouvelles réactions histochimiques chez Crenilabrus melops L., se trouve une nouvelle fois confirmé, toujours à l'aide de ces mêmes réactions cependant cette fois encore, sur la Grenouille, mais d'une espèce différente : Rana Temporaria L.

L'hypothèse de travail que nous avons formulée au sujet de la sensibilité des grands cônes aux lumières de courtes longueurs d'onde, et inversement, pour les cônes de faible dimension, se trouve donc vérifiée.

b) Résultats des réponses de la rétine de Rana temporaria L. avec la lumière verte (écran Wratten Kodak n° 74). (fig. 40 -41) -

Lorsqu'on examine la rétine de la Grenouille Rana temporaria L. éclairée avec la lumière verte, dans les mêmes conditions d'éclairage, on constate que les bâtonnets sont un peu plus résistants à cette lumière. Après une demi heure, ils ne sont pas décolorés. Dans les diverses réactions histochimiques et colorations ils sont assez fortement colorés dans le segment externe : Il en est de même des cônes. Pour obtenir une réponse des cônes, nous avons constaté qu'il serait préférable que les bâtonnets soient décolorés, nous avons dans ce but prolongé la durée d'exposition. Au bout d'une heure un quart nous avons pu obtenir des résultats avec décoloration partielle

des bâtonnets et effet net sur les cônes. C'est le cône du type II qui est décoloré dans son segment externe. L'observation est assez délicate à cause des pigments descendant davantage et plus bas. Les autres cônes sont bien colorés et plus résistants à la lumière verte. Si on prolonge la durée d'exposition la décoloration du segment externe est plus nette, mais le cône du type I est légèrement touché, et parfois on observe une réponse légère du cône IV à cause de la durée trop longue. Pour obtenir une réponse convenable, dans nos expériences antérieures, nous avons reconnu qu'il fallait un seuil de brillance plus élevé, capable au moins de décolorer complètement les bâtonnets dans un temps donné.

En opérant toujours dans les mêmes conditions (écran et éclairage d'apport) nous avons alors utilisé à la place, une lampe de 200 watts ou une lampe à vapeur de mercure et les résultats furent meilleurs avec un temps d'exposition plus court.

Prenons par exemple une préparation colorée à l'azan : lorsque les bâtonnets sont décolorés, on obtient une bonne réaction photochimique des cônes. Le cône du type IV bien coloré, paraît être au repos, il mesure 10 à 12 μ comme pour la lumière blanche. Le cône du type III, quand on peut le trouver bien individualisé est coloré, il garde sa taille normale 12 à 15 μ . Le cône du type II est décoloré et contracté (15 à 18 au lieu de 20 à 22 μ sur la même rétine) on observe chez divers cônes du type II une décoloration nette du segment externe au dessus de la vacuole, tandis que, en dessous, la région de l'ellipsoïde reste encore colorée, la myoïde étant claire. Le cône du type II, montre à côté de la décoloration du segment externe une vacuole basse (12 à 13 μ de la limitante) ce qui traduit son état de contraction. Dans certains cas la vacuole arrive à l'extrémité supérieure du cône IV qu'il dépasse normalement de beaucoup.

Il résulte que la lumière verte, à une intensité suffisante, provoque surtout la décoloration du segment externe des cônes du type II, bien plus que les autres cônes. Le grand cône du type I est légèrement sensible. Cette décoloration du type II s'observe aussi avec la réaction opsine-alun-hémétoxyline, de Mac Manus, ainsi qu'avec les autres réactions mais de façon moins nette et moins contrastée.

En résumé, avec la lumière verte, il faut, pour obtenir une bonne réponse des cônes, un seuil de brillance assez élevé, ce phénomène avait déjà été rencontré chez Rana esculenta L. cependant

avec les nouvelles réactions histochimiques plus précises et plus fidèles nous avons pu obtenir des résultats assez satisfaisants et nets. Pour la lumière verte, à une égale intensité de lumière colorée, la Grenouille apparaît moins sensible que le Poisson.

c). Résultats des réponses de la rétine de Rana temporaria L. avec la lumière jaune (écran Schott et lampe jaune à vapeur de sodium.)
(fig. 42 et 43).

L'examen de la rétine de Grenouille à la lumière jaune est intéressante. La lumière jaune agit sur les bâtonnets de façon marquée (comme la lumière blanche), son action sur les bâtonnets serait même plus importante, on y observe des altérations ou des gonflements du segment externe. Normalement inférieur à 8 et 10 μ son diamètre arrive à 12 à 15 μ , sa décoloration est bien plus poussée que pour la lumière blanche, et les pigments paraissent réagir davantage pour protéger les bâtonnets et les cônes.

A la lumière jaune ordinaire on note avec la réaction opsine-alun-hématoxyline que le cône du type I est très bien coloré, ainsi que le cône du type IV, qui lui est associé. De même le type II présente un segment externe coloré. Ces trois éléments : I, II et IV ne paraissent pas être contractés. Dans les cônes du type III que nous avons pu trouver le segment externe est décoloré mais la partie de l'ellipsoïde du corps intercalaire demeure; la myoïde n'est pas colorée. D'après la position des pigments qui l'entourent et dessinent sa forme nous avons essayé de déterminer sa hauteur, ce qui est difficile, puisque ce cône ne possède pas de vacuole. Nos déterminations montrent que probablement il ne fait que 14 μ au lieu de 18 à 20 μ . Ce cône serait plus ou moins contracté. Ce fait joint à la décoloration du segment externe montre qu'il est sensible à la lumière jaune; dans la plupart de nos préparations on ne le retrouve pas, alors que tous les autres cônes sont facilement reconnaissables et moins recouverts par les pigments. La réaction opsine-alun-hématoxyline est celle qui a permis le mieux l'étude de ce cône.

Avec l'azan nous avons pu en retrouver. Il est souvent recouvert par le pigment. D'après nos mensurations ce cône est contracté et mesure 14 ou 15 μ , on le voit parfois relié à un noyau d'aspect correspondant à celui de son noyau type ce qui est une présomption pour son identification. Avec les autres réactions à cause de sa finesse il est très difficile à étudier.

Avec la lumière à vapeur à sodium (lampe Philipp de 45 watts 2.700 lumens) les segments externes des bâtonnets ne sont pas décolorés de façon complète au bout de 5 minutes (nous avons utilisé surtout la durée de 10 minutes) la décoloration est plus poussée dans les régions centrales de la rétine, un certain nombre de bâtonnets sont bien décolorés, et leur segment externe sont plus ou moins dilatés (10 à 12 μ). Les éléments les moins touchés gardent leur largeur normale (6 à 7 μ), plus particulièrement dans les régions paracentrales et périphériques. Avec cette lumière, on trouve que les cônes présentent presque tous un certain degré de sensibilité. Le cône du type IV est le moins sensible, puis vient le type I, puis le type II qui est légèrement retractoré (18 à 20 μ au lieu de 20 à 22 μ). Le cône du type III n'est pas retrouvé avec la lumière de sodium, par la réaction opsine-alun-hématoxyline, et l'azan (qui sont les meilleurs pour la mise en évidence des cônes). Il doit être complètement décoloré d'où difficile à retrouver. La coloration des lipides avec le bleu lumière, montre les mêmes particularités. Celle de Mac Manus montre la diminution des polysaccharides dans les cellules visuelles et rétinienne. Les fluorones colorent un peu plus respectivement les cônes IV, I et II. Le cône du type III est difficile à retrouver, car il est décoloré.

En résumé, de l'ensemble des réactions effectuées sur des préparations de rétine éclairées par la lumière jaune et lumière jaune à vapeur de sodium, il apparaît que le type III, cône fin et grêle, est très sensible à cette lumière. Elle peut atteindre aussi les autres cônes, puisque c'est la lumière primitive pour laquelle ils ont toujours réagi avant leur différenciation pour la couleur. Ce résultat est superposable avec ceux de nos observations du cercle des couleurs, à la lumière de vapeur de sodium et où l'oeil de l'observateur est mis au repos surtout pour le rouge, puis le vert et l'orangé. Ils sont aussi en accord avec les résultats préliminaires chez Rana esculenta L. cependant avec plus de réactions et de réponses convergentes. De plus ils sont conformes aux résultats de la rétine du Crénilabre, assignant au cône III la sensibilité au jaune. Dans l'ensemble les résultats obtenus avec la lumière jaune sont bien le reflet de la sensibilité de la rétine pour cette lumière et cette couleur.

d) . - Résultats des réponses de la rétine de Rana temporaria L. avec la lumière rouge (écran Wratten Kodak) (fig. 44 et 45) -

Sur des préparations de rétine éclairée avec la lumière rouge on observe tout d'abord que les bâtonnets présentent une résistance assez nette. Ce fait est bien mis en évidence par la réaction

opsine-alun-hématoxyline, où le segment externe des bâtonnets, est encore très coloré, alors que la zone des cônes les plus bas, contre la limitante externe, entre les bâtonnets et la couche des grains, apparaît très claire. Il en est de même avec la coloration au bleu lumière, au Mac Manus, la coloration à l'azan, et même les fluorones.

L'examen des cônes montre la sensibilité particulière du cône du type IV.

Ce cône, court et ventru, présente une décoloration nette et marquée de son segment externe dans la réaction opsine -alun- hématoxyline. Les autres cônes II et I possèdent des segments externes bien nets peu, ou pas décolorés.

Dans la réaction à l'azan on retrouve la sensibilité du cône du type IV, mais la différence avec les autres cônes est moins tranchée. Dans la réaction de Mac Manus le cône du type IV est plus touché par la lumière rouge que les bâtonnets.

La coloration des lipides par le bleu lumière, permet de constater aussi la décoloration du segment externe du cône IV, mais elle n'est pas très spécifique, les autres cônes sont aussi légèrement décolorés. Il en est de même avec les fluorones pour les nucléotides.

La lumière rouge possède un effet sur les substances sensibles, agit plus spécifiquement sur la fraction protéique du segment externe du cône IV, et moins sur les autres liaisons: caroténoïdes, nucléotides, lipides, polysaccharides, bien qu'on observe une réponse préférentielles de ceux-ci.

On peut, en résumé, conclure que la lumière rouge possède un effet moindre sur les bâtonnets, et qu'elle agit de façon plus énergique sur les cônes. C'est la réaction des protéines qui démontre le mieux son action spécifique sur le cône IV. Cependant on peut constater que les cônes I et II résistent à la lumière rouge d'une façon très marquée, leurs segments externes restant nets et bien colorés.

IV - Résumé de nos observations sur la vision de la Grenouille

Rana temporaria L. - Sensibilité de l'œil et vision des couleurs.-

De l'expérimentation chez la Grenouille Rana temporaria L. avec la lumière blanche et les lumière colorées on peut conclure que l'on

retrouve avec les réactions histochimiques nouvelles, les mêmes résultats que chez le Poisson, concernant la réponse des bâtonnets et des cônes. Cette étude apporte quelques précisions nouvelles et une confirmation de l'existence d'une vision tétrachromatique possible chez les Vertébrés comme les Poissons, Batraciens, s'ils possèdent quatre types de cône.

Les bâtonnets classiques de Rana temporaria L. sont sensibles à la lumière blanche et jaune, tandis que les bâtonnets de type "vert" ou "massue" seraient plus résistants, ce qui leur assignerait peut-être un rôle particulier. D'ailleurs il existe plusieurs variantes dans la forme de ces bâtonnets d'après la hauteur de leur segment interne. Vu la résistance de leurs substances visuelles à la lumière blanche, tout comme celles des cônes, une hypothèse sur leur rôle probable, peut être évoquée, en particulier en les rapprochant des résultats et des conclusions de Birukow, (concernant la vision des couleurs des bâtonnets), des résultats de Trincker (qui s'appuie sur les courbes des modulateurs de Granit et ses résultats avec la méthode optométrice que nous avons relatés plus haut). Pour nous, cette sensibilité aux couleurs serait secondaires par rapport à celle des cônes.

Les cônes sont démontrés par nos réactions histochimiques comme plus résistants à la lumière blanche par leur substance visuelle l'iosopsine. Cette dernière ne doit pas être homogène et doit renfermer différentes liaisons chimiques de richesse et de sensibilité variables, les unes plus sensibles aux courtes longueurs d'ondes et les autres aux grandes longueurs d'ondes réparties de façon variable au niveau des différents types de cônes.

Ce qui est certain, c'est qu'au cours de nos examens histo-chimiques systématiques sur les rétines diversement éclairées par des lumières de différentes longueurs d'ondes, il apparaît que les cônes interviennent dans la vision des couleurs, dans le sens de l'hypothèse que nous avons émise au sujet du rapport inverse des dimensions des cônes et des longueurs d'ondes. Chez le Crénilabre, il existe quatre types morphologiques indiscutables de cônes, et nous avons trouvé quatre types de réponses préférentielles aux couleurs correspondant à ceux-ci. De même chez Rana temporaria L. on trouve aussi quatre types de cônes (différents par leur forme et leurs dimensions), et quatre types de réponses aux couleurs allant dans le même sens. Les cônes du type I sont sensibles à la lumière bleue, qu'ils soient seuls ou associés (ces derniers sont plus nombreux chez Rana temporaria L. dans les régions centrales de la rétine.

Les cônes du type II sont sensibles à la lumière verte, mais nécessitent un seuil de lumière plus élevé.

Les cônes du type III sont sensibles à la lumière jaune et de vapeurs de sodium, mais cette lumière peut aussi avoir une action sur les autres cônes.

Les cônes du type IV sont sensibles à la lumière rouge et résistent mieux aux autres lumières de grandes longueurs d'ondes.

Ces résultats plus directs, plus récents, avec des méthodes histochimiques nouvelles, sur des espèces différentes, confirment ceux de nos recherches antérieures sur la vision des couleurs avec la seule méthode des fluorones.

Il résulte de nos observations que la possession par un animal d'un nombre morphologique de cônes fonctionnels pour les couleurs, doit refléter sa possibilité de vision colorée.

L'existence (chez les Vertébrés inférieurs comme la Grenouille, le Poisson), de quatre types de cônes traduisant une vision colorée sur une base tétrachromatique paraissant être établie. Il n'est pas déraisonnable de penser qu'il doit en être ainsi chez les Mammifères et chez l'Homme; puisqu'il a été déjà démontré, comme nous l'avons vu plus haut, que la perception des quatre couleurs existe chez beaucoup d'entre eux.

V/ - RECHERCHES ORPHOLOGIQUES SUR LA PRESENCE DE QUATRE TYPES

DE CONES CHEZ QUELQUES VERTEEBRES, MAMMIFERES, ET CHEZ

L'HOMME

On peut se rendre compte, d'après l'examen du développement de l'appareil de la vision des animaux, et de leur évolution en vue de l'acquisition du sens de la couleur, que le perfectionnement morphologique s'est effectué de façon continue à travers les espèces, surtout chez les Epineuriens peu riches en clades, et, qu'à partir des Vertébrés, la vision a acquis un perfectionnement progressif en allant des Mammifères vers les Primates et l'Homme. Nous avons vu que leur rétine, formée de cônes et de bâtonnets, pouvait à travers la filiation, être influencée par le mode de vie, selon que l'animal est diurne ou nocturne, hibernant ou fouisseur, ou bien vit en pleine lumière.

Pour l'acquisition de la vision chromatique, nous avons relaté dans notre étude, que l'Homme et les Primates ont une perception spécifique de la couleur et que chez les autres animaux, contrairement à certains auteurs, il existe une vision des couleurs qui tend à se rapprocher de celle de l'Homme. Les anciens auteurs croyaient que les qualités visuelles des animaux correspondaient à celle de l'Homme, mais avec une cécité chromatique totale. Et Ovio (1932) lui-même dit : "A première vue, cet état d'infériorité peu sembler invraisemblable, vu la grande diffusion des couleurs dans la nature. Et devant le monde des couleurs, si vaste et si complet nous sommes tentés de nous demander : est-il possible que tout cela échappe à une grande partie des animaux ?".

Dans notre étude précédente nous avons rappelé les travaux, anciens et modernes basés, non plus sur l'observation ou l'étude morphologique, mais sur des travaux expérimentaux utilisant diverses méthodes : dressage avec réflexes conditionnés, réflexes optomoteurs, photomoteurs, méthodes d'optique physique, méthodes d'enregistrements électriques, méthodes chimiques d'extraction etc. qui

révèlent l'existence de la vision des couleurs depuis les Vertébrés inférieurs (Poisson, Batracien) jusqu'à l'Homme. La vision des couleurs a été décelée même chez les Invertébrés : Mollusques, Céphalopodes, Arthropodes, et les Insectes dont les Annelides seraient les espèces de jonction.

Si on admet les résultats de ces recherches, pour la plupart basées sur des méthodes indirectes et globales, on peut remarquer que, différentes par leur point de départ, elles convergent toutes sur la notion que les animaux présentent une vision des couleurs.

Pour les être primitifs il peut exister une vision de blanc et de noir, c'est-à-dire, une sensation de clarté achromatique. Après acquisition de substances visuelles nouvelles ils perfectionnent leur système, et peuvent percevoir une lumière jaune, jaun-vert, qui marque le début d'une vision colorée par le moyen des cônes. Puis cette vision s'affirme en permettant la différenciation des couleurs de courtes longueurs d'onde, et de grandes longueurs d'onde, allant plus loin dans le vert, le bleu, puis dans le rouge.

L'acquisition de la vision colorée paraît coïncider avec la maturation des cellules visuelles par différenciation des éléments primitifs en bâtonnets et en cônes plus spécialisés. Les bâtonnets seraient sensibles à la lumière et, secondairement aux couleurs. Les cônes seraient plus directement liés à la perception essentielle des couleurs et à une vision de netteté (cônes maculaires).

Le fait remarquable est que, l'évolution vers l'acquisition de la fonction visuelle des couleurs, animale et humaine, a pu être retrouvée au cours de l'évolution ontogénique, grâce à l'examen histologique des cellules visuelles, et aussi à l'étude des réflexes photomoteurs et optomoteurs.

Les études parallèles de ce développement, par Birukow chez la Grenouille, et l'étude de l'évolution de la rétine humaine par différents auteurs relatés par Dejean, Hervouët, et Leplat au cours de la gestation, et par Peiper et Trincker après la naissance, montrent qu'il y a identité entre les degrés de développement morphologiques des cellules visuelles et le développement de la fonction visuelle colorée en rapport avec le système nerveux.

Du point de vue physiologique Birokow a démontré que la Grenouille, à l'état larvaire, pouvait percevoir une lumière jaune-

vert, puis, au fur et à mesure de son développement : le vert, le bleu, et le rouge. A l'état adulte elle possède une vision colorée de base tétrachromatique. De même chez l'enfant, par de nombreuses recherches on a pu localiser la période d'acquisition de la perception de la vision des couleurs, à la fin du deuxième mois et au début du troisième mois, l'enfant voit successivement les quatre couleurs dans le même ordre que la Grenouille. D'après Trincker, la perception des couleurs existe mais la distinction ne peut se manifester car la dénomination des couleurs exige un effort d'abstraction lié au développement du système nerveux.

Les expériences de O. Kalischer (1909) montrent que la destruction des centres optiques corticaux, chez le Chien, annihile la distinction des couleurs, tandis que les centres sous-corticaux restants, permettent encore la perception de clarté.

Ce qui se dégage de ces recherches indirectes sur la physiologie de la rétine, c'est la concordance entre l'apparition de la fonction d'une part et l'apparition et la maturation morphologique, physiologique et chimique des cellules spécifiques d'autre part.

La perception des couleurs dans les deux cas : Grenouille, Enfant étant sur une même base tétrachromatique, discerne : le rouge le jaune, le vert et le bleu.

Si la base tétrachromatique physiologique a été affirmée et prônée par de très nombreux travaux, la base morphologique manque encore. Nous n'avons pas trouvé dans la littérature, le signalement de la présence de quatre types de cônes pour la couleur.

La plus ancienne observation a été faite, en 1899 par R. Greeff qui distingue chez le Poisson Leuciscus aulatus L. quatre espèces de cônes : des grands et gros, des grands et fins, des petits et des doubles.

A part cette observation, on ne trouve pas d'autres renseignements. Walls (1942) rapporte l'existence chez les Vertébrés de cônes simples et de cônes doubles : ces derniers constitués par deux éléments dissemblables (le cône principal toujours semblable au cône simple de la même rétine, et le cône accessoire incontestablement différent. Walls signale aussi, strictement chez des Poissons Téléostéens l'existence de cônes jumeaux (deux cônes identiques) et de doubles cônes (deux éléments différents). Chez le serpent, Cemophora coccinea L., colubridé diurne, il décrit dans leur rétine ces trois

catégories de cônes : la première de type A : cône simple abondant dans la rétine, la deuxième de type C: cône simple et moins abondant, manquant même parfois dans la rétine différenciée, la troisième de type B: cône double dont l'élément principal ressemble au cône A, et l'élément accessoire au cône C, mais mince et beaucoup plus long.

Segal rapporte (1953) que de gros efforts ont été entrepris pour mettre en évidence trois types de cônes représentant trois catégories de récepteurs chromatiques; il convient qu'on peut trouver dans la rétine des cônes foveaux et extra foveaux de types différant par leur forme et la nature de leur synapse, mais, pour l'auteur, cette différenciation ne peut avoir aucun rapport avec la vision chromatique, et rien ne permet de rattacher ces différents cônes aux catégories pouvant correspondre aux groupes chromatiques spécifiques; et il s'appuie sur les affirmations de Polyak (1949) qui trouve une uniformité structurale et fonctionnelle des cônes centraux dans les rétines des Mammifères et des Primates. Il ajoute en outre, que s'il existait dans la rétine des Mammifères une diversité fonctionnelle des cônes, elle se manifesterait par des caractéristiques morphologiques très apparentes. Dans tout l'embranchement des Vertébrés, à la seule exception des Mammifères on rencontre, dit-il, de nombreux cas de dimorphisme des cônes comme chez Sturnus vulgaris L. (Oiseau), chez Anolis fragilis (Lézard) Cerastes vipera L. (Serpent) tandis que chez les Mammifères il n'y aurait qu'une étonnante homogénéité morphologique.

Au sujet de cette homogénéité morphologique, il est curieux de signaler le schéma de Policard (1950), montrant dans la rétine humaine selon les différents points quatre catégories de cônes : le cône n° 1 du schéma près de l'ora serrata, le cône n° 2 dans le fond en dehors de la macula, le cône n° 3 sur le bord de la macula, le cône n° 4 à l'intérieur de la macula. Ces 4 catégories diffèrent par leur forme et leur dimension. Prenons note simplement de la présence d'un polymorphisme possible des cônes dans la rétine humaine et de la présence de quatre morphologies différentes. (fig : 46)

Si nous revenons aux résultats physiologiques, des travaux et des faits, plaident en faveur d'un polymorphisme sur des bases di, tri ou tétra chromatiques. Wolf (1925) a trouvé par le réflexe retinomoteur, que le Vairon est capable de discerner vingt quatre sortes de couleurs. Les travaux de Von Frisch (1914) et de Hess (1898) vont dans le même sens. Pour Trincker, le Poisson est de

loin supérieur à tous les Invertébrés pour la vision des couleurs. Motokawa (1956) a trouvé chez le Poisson quatre maxima d'absorption (1 principal 3 autres additionnels) à 470 - 550 - 600 - 650 mμ. Plus récemment Svaetichin (1958), expérimentant sur le Muge du Brésil a trouvé que chez le Poisson la vision des couleurs doit être attribuée à la présence des cônes doubles, et il montre, sur les courbes des réponses l'association des cônes Rouge et Vert, et jaune et Bleu. Pour cet auteur, dans le cône jumelé ou associé chacun des cônes a, implicitement, une réponse propre, et la notion qui se dégage de son travail est que la vision des couleurs, chez ce Poisson, est axée sur un système de vision tétra-chromatique.

Nos recherches histochimiques récentes chez le Crénilabre ont montré que ce Poisson a quatre types de cônes différents par leur taille et par leur forme et qu'il n'a pas de cônes doubles. Dans la réponse à la lumière, les bâtonnets jouent un rôle, sous l'action des quatre différentes lumières colorées : bleu-vert, jaune-rouge nous avons obtenu, après détection histochimique des substances composantes et de celles du cycle de l'iodopsine, des réponses préférentielles assez nettes de chacun des types I, II, III, IV pour sa couleur respective. Cette nouvelle réponse morphologique, physiologique et chimique directe montre que le Poisson est sensible à la lumière et aux quatre couleurs, d'où un système tétrachromatique. Chacun des cônes répond à la couleur pour laquelle il est sensible. La question des cônes associés pouvant jouer un rôle dans la vision des couleurs, par le fait qu'ils sont réunis, ne nous paraît pas primordiale. Chez le Muge du Brésil de Svaetichin, chacun des cônes associés : rouge-vert ou jaune-bleu, répond à sa couleur, nous pensons que l'idée directrice du rôle des cônes associés dans la vision chromatique, avancée par Svaetichin, a conduit l'auteur, à attribuer la vision des couleurs rouge, vert, bleu, jaune aux cônes doubles, alors que le cône simple (light cone) sensible au jaune n'a qu'un rôle indépendant pour la luminosité. A vrai dire, lorsqu'on regarde bien les résultats de Svaetichin on voit qu'il trouve associé dans un cône double (R-G) un cône sensible à la longueur d'onde 630 mμ (rouge) et un cône sensible à la longueur d'onde maxima 506 (vert), tandis que dans le deuxième cône associé, qu'il appelle B et Y, il existe pour l'un une sensibilité maxima à 460 mμ (bleu), et pour l'autre à 610 mμ qu'il identifie au jaune (Y).

Or, à notre avis d'après la classification des couleurs, selon Maxwell ou Helmholtz, la longueur d'onde correspondant au rouge est à 630 mμ, au jaune 572, à l'orangé 604. Il semble que la longueur d'onde 610 est plus proche du rouge que du jaune, le cône associé Y - B de Svaetichin serait, d'après nous, plutôt du type R - B et c'est ce que nous rencontrons assez souvent chez Rana-temporaria L; qui possède des cônes associés assez nombreux - fréquemment des cônes rouge du type IV et vert du type I. Nous formulerons l'hypothèse que le cône simple "light cone", sensible au jaune (574 mμ) doit et peut participer à la vision du jaune dans le système tétrachromatique.

Chaque cône travaille séparément et l'association, ou le couplage, ne lui font pas perdre son unité, et n'interviennent pas dans la vision des couleurs fondamentales, mais pour d'autres raisons. Le travail de Svaetichin est très intéressant dans le sens qu'il apporte une preuve pour la vision des couleurs par les cônes, mais si on suit le principe que la vision des couleurs est due aux cônes associés, on ne peut expliquer la réponse des animaux qui n'ont pas de doubles cônes.

Notre étude sur le Crénilabre qui possède quatre types indiscutables de cônes, différant par leur taille et répondant aux lumières colorées de façon préférentielle, doit correspondre à une vision des couleurs par le jeu physiologique spécifique des cônes, et la vision de ce Poisson serait d'après la morphologie, la chimie et la physiologie, basée sur un système tétrachromatique.

Il en sera probablement de même pour les Grenouilles Rana esculenta et Rana temporaria L. Les recherches de Birukow ont montré que la Grenouille perçoit le jaune, le vert, le rouge et le bleu ; c'est-à-dire quatre couleurs, d'où il devrait exister quatre types morphologiques de cônes pour traduire ce fait tétrachromatique.

Granit dans ses enregistrements électriques sur les yeux de Grenouille a apporté des courbes de modulateurs où l'on trouve : un groupe bleu (entre 440 et 470 mμ), un groupe vert (520 - 540) et un groupe rouge (580 - 610). Si nous raisonnons par analogie, selon Granit il y aurait trois couleurs fondamentales ou trois récepteurs. Or, si on examine les maxima du groupe rouge on trouve en fait, que ce groupe rouge est formé d'un maximum à 580 et un autre à 610. Si nous considérons le maximum 580, il est très proche de 574, c'est-à-dire du jaune, et 610 serait proche du rouge. Le système trichromatique bleu-vert et rouge serait un système plutôt, tétrachromatique. Dans l'adoption de la théorie trichromatique de Young et Helmholtz la couleur jaune a été négligée et groupée avec le rouge, à l'inverse de Svaetichin qui rapproche le rouge du jaune.

Notre étude histochimique récente directe, montrant plus haut chez Rana temporaria L et même chez Rana esculenta L; quatre types de cônes : I, II, III, IV, morphologiquement différents, répondant de façon physiologique aux quatre couleurs (bleu, vert, jaune, et rouge) et donnant les réactions histochimiques concordant avec ces couleurs paraît bien traduire le fait tétrachromatique observé par Birukow, et expliquer tout aussi bien les résultats électriques de Svaetichin que ceux de Granit. Comme le développement de la vision des couleurs est déjà assez bien différencié à partir des Vertébrés, Poissons, Amphibiens etc., pour atteindre un degré de perfectionnement plus grand encore chez les Mammifères, Primates et chez L'Homme, où la perception spécifique des couleurs existe de façon évidente, on peut concevoir un certain rapport entre les cônes et la

vision des couleurs. Du fait que cette fonction existe, et de plus qu'à travers les espèces Poissons, Batraciens, nous avons trouvé les organes correspondants, que des théories, comme celle de Piéron admettent également la présence de quatre types de cônes avec possibilité de couplage nerveux de quatre éléments, que selon le schéma de Policard montrant la possibilité d'une existence de quatre types de cônes différents de dimension et de forme (selon leur emplacement dans la rétine), que les travaux de Motokawa et collaborateurs 1951 et 1956 montrent quatre types de réponses par des méthodes électriques assez sûres, que les travaux des physiologistes et biologistes sur les oiseaux, Reptiles, Mammifères, les Primates et l'Homme (en particulier ceux de Trincker-) montrent des réponses avec une base tétrachromatique : il serait important de faire une analyse plus serrée des cellules visuelles.

Nous avons fait alors des recherches morphologiques chez les Mammifères et chez l'Homme en utilisant la coloration à l'hématoxyline et en imprégnant plus fortement à l'alun.

Chez le Lapin, (fig. 47) nous avons retrouvé les quatre types de cônes décrits chez la Grenouille. Le cône du type IV qui est court et trapu chez la Grenouille présente le même aspect, ses dimensions sont cependant beaucoup plus grandes. L'allure générale des autres cônes se retrouve aussi, le cône du type III est plus difficile à voir, et le type IV est moins fréquent. Nous pouvons cependant dire que les quatre types de cônes décrits ne sont pas le seul apanage des Amphibiens et des Grenouilles, mais peuvent se retrouver avec les mêmes formes et avec quelques modifications dans leur dimension chez le Lapin.

Dans la rétine du Chien, la recherche morphologique nous a permis de distinguer quatre types de cônes assez semblables à ceux décrits chez la Grenouille et le Lapin, cependant le type IV rappelle davantage celui de la Grenouille que celui du Lapin qui est légèrement plus gros. (fig. 48)

Le cône du type III est fin, les cônes II et I se retrouvent, mais dans la rétine du Chien (que nous n'avons pas pu garder à l'obscurité) il existe des cônes du type II plus ou moins contractés ou allongés selon les points de la rétine. Dans l'ensemble les quatre types de cônes s'identifient mieux avec ceux de la Grenouille qu'avec ceux du Lapin dont le type IV est plus gros.

Dans la rétine du Taureau nous avons retrouvé en gros, quatre types de cônes : le type IV est assez bien représenté, court en ventru, assez variable selon les différentes parties de la rétine, tantôt trapu et contracté, tantôt plus allongé. (fig. 49)

Le cône du type III est fin et petit, quand il est contracté

il ressemble un peu au type IV, cependant il a une myoïde rétrécie qui l'en différencie.

Le cône du type II est plus trapu que chez la Grenouille et plus ventru, à différents états de contraction.

Le cône du type I existe mais il est moins allongé, il semblerait en général que les cônes soient plus ramassés, les éléments II et I sont moins longs et moins étirés.

Dans la rétine du Singe Cynocéphale (que nous avons pu obtenir grâce à l'amabilité du Professeur Lépine de l'Institut Pasteur) l'examen des préparations nous a montré quatre types analogues à ceux que nous avons décrits chez la Grenouille. (fig. 50)

Le type IV est court, assez sphérique, avec un article externe pointu, il ressemble assez au type classique. Le type III chez le Singe est assez gros dans sa partie intercalaire quand la myoïde est contractée ; il est en plus ovoïde et allongé quand la myoïde est plus longue. Le type II a un segment externe à peu près égal au segment interne, il possède une petite vacuole à la base du segment externe, il est assez abondant. Le cône du type I plus allongé, possède un segment interne assez grand (deux fois plus long que le segment externe) et il apparaît souvent plus courbé que le cône du type II.

Dans la rétine humaine (que nous avons pu avoir en assez bon état grâce à l'amabilité du Docteur Paycha) nous avons pu retrouver après forte imprégnation à l'alun et différenciation en fonction des segments externe et interne du cône plus que des grains externes, quatre types de cônes d'ailleurs assez inégalement répartis dans la rétine. (fig. 51 et 52)

Le type IV a la forme typique : ventru et ramassé, il a un segment externe pointu plus ou moins sinueux. On le voit dans les régions para centrale et périphérique. Le cône du type III est plus gros, de forme variable, tantôt allongé, tantôt ramassé, il est plus haut que le cône IV, son corps intercalaire assez gros, repose sur une myoïde plus ou moins allongée ou rétractée. Le type II a la forme d'une bouteille peu ventrue, son segment externe est presque aussi long que son segment interne, il ne présente pas de vacuole. Le type I plus grand, allongé, un peu ventru, possède un segment interne plus long que le segment externe, avec une vacuole assez grosse à la base du segment externe, comme chez la Grenouille.

Dans l'ensemble sur la rétine humaine les quatre types de cônes de taille différente ont des formes globales qui rappellent un peu ceux de la Grenouille, avec les différences signalées : le cône du type III en est le plus différent, car il est plus gros et plus

massif, le type II également est plus ramassé.

Dans nos recherches morphologiques faites dans des conditions assez éloignées de nos conditions habituelles d'obscurité, de fixation, de prélèvement, les éléments ne présentent pas leurs aspects les plus typiques des rétines obscurées, mais des états assez divers pour un même type de cône.

Ces recherches n'ont qu'une valeur d'orientation. Une étude systématique et détaillée chez les Mammifères serait trop longue et sortirait du cadre de ce travail. Ces recherches sommaires ont l'intérêt de montrer un polymorphisme des cônes et d'orienter les recherches vers l'existence de types morphologiques, pouvant soutenir la comparaison avec les types de la Grenouille et présentant surtout des différences de dimensions correspondant aux différentes longueurs d'onde des lumières excitatrices.

La ressemblance des types de cônes de différentes tailles avec ceux de la Grenouille et répartis dans la rétine, selon quatre couches composantes successivement sensibles au rouge, jaune, vert et bleu, peut rappeler les couches des émulsions photographiques de couleur avec en plus la couche des bâtonnets qui pourrait correspondre au noir ou au blanc des émulsions. Cette ressemblance de la rétine avec les films photographiques, possédant quatre couches sensibles aux couleurs fondamentales, et pouvant permettre la vision des couleurs selon le mode de synthèse additive et soustractive serait assez conforme au système oculaire que nous avons reconnu en examinant expérimentalement l'oeil de Boeuf, comme un dispositif analogue à un véritable appareil photographique dont la rétine serait la plaque de couleur.

Si notre hypothèse de travail s'avère exacte, ce serait un argument de plus en faveur d'une base histologique pour l'existence des cônes comme récepteurs chromatiques et qui permettrait d'expliquer les résultats et les progrès obtenus dans le domaine photographique où la couleur jaune joue un rôle important.

Cette disposition des cônes en quatre étages dans la couche des cellules visuelles permet d'expliquer la possibilité pour l'oeil de l'Homme et des animaux, d'embrasser la gamme des couleurs si variée et si complète allant des plus grandes longueurs d'onde aux plus courtes, d'expliquer les résultats obtenus par Motokawa en montrant que la vitesse de vision peut-être plus grande pour le rouge que pour le jaune, le vert ou le bleu du fait de la disposition des couches sensibles aux couleurs de la rétine, elle permet d'expliquer aussi dans les expériences de Svaetichin pourquoi l'amplitude de la réponse du cône rouge est de $1/5$ de l'amplitude du cône bleu.

On sait que les réponses des cellules sont en rapport avec

l'importance du cytoplasme des cellules sensorielles, le neurone du type "midget" étant de plus petite dimension et la même pour presque tous les cônes. Elle permet aussi d'expliquer pourquoi la couleur bleue est plus reposante que la rouge : la couche sensible au bleu, lorsque l'oeil regarde à l'infini est beaucoup plus éloignée du foyer chromatique bleu du système optique qui se trouve un peu en avant de la rétine, les cônes bleus seraient aussi légèrement protégés par trois couches de cônes ayant déjà absorbé les autres lumières et formant une sorte d'écran protecteur devant elle.

CONCLUSIONS

Au cours de ce travail, nous avons abordé la physiologie de la rétine par l'étude de la sensibilité de l'oeil et la vision des couleurs en utilisant les méthodes directes de l'histochemie.

Notre étude a été facilitée par l'application des méthodes des fluorones qui nous ont permis de localiser les substances sensibles de la rétine et d'explorer la fonction des cellules visuelles.

Nous avons constaté que les nucléotides jouent un rôle dans la spermatogénèse au niveau des spermatozoïdes, et dans la vision au niveau des cellules visuelles. Ce rôle s'exerce par un métabolisme biochimique localisé spécifiquement dans ces cellules et qui subit un balancement au cours du cycle génital, nettement dans certaines espèces.

Cette relation optogonadique différente de celle décrite par R. Collin (réflexe optosexuel) et par J. Benoit (réflexe optohypothalamopituitaire) relève surtout de l'action spécifique des médiateurs enzymatiques nucléotidiques (dérivés de l'acide adénosinetriphosphorique pour le spermatozoïde) et dérivés diphosphonucléotides de la rétinène-réductase pour la rétine. Ces derniers interviennent dans le cycle de la rhodopsine et de l'iodopsine ainsi que d'autres substances métaboliques.

L'intervention des nucléotides dans le métabolisme des pigments visuels sensibles à la lumière et aux couleurs, décelables par les fluorones nous a permis de mettre au point une méthode de recherche et d'essayer d'apporter une contribution histophysiologique à l'étude de la rétine par les moyens directs de l'histochemie.

Après un court historique des réactions des fluorones et des faits déterminants de notre étude, nous avons appliqué les réactions des fluorones à l'étude de quelques éléments de l'oeil, du cristallin et en particulier de la rétine, concurremment à d'autres techniques employées en méthodes convergentes.

Nos résultats montrent dans le cristallin l'existence de dérivés nucléotidiques et de diverses substances dont nous avons précédé la répartition et le rôle dans le métabolisme normal et au cours des cataractes.

Ils ont été par la suite confirmé par les résultats biochimiques des analyses et dosages de Mandel Nordmann et Zimmer ; cette confirmation a renforcé notre confiance dans les méthodes de détection des nucléotides par les fluorones.

Dans la rétine, la coloration des nucléotides montre que le bâtonnet est plus sensible que les cônes, et que les nucléotides à ribose de leurs segments externes peuvent traduire les différences de nature et de fonction des cellules visuelles vis à vis de la lumière.

Un lien de parenté entre bâtonnets et cônes est suggéré par la coloration analogue des cônes de différentes dimensions, avec transition progressive, les grands cônes se rapprochant le plus des bâtonnets.

La coloration variable des cônes (grande et petite dimension) révèle une différence à leur niveau, soit de constitution interne, soit des teneurs en produits dégradés latents des substances sensibles. La résistance des cônes à l'action de la lumière suggère leur rôle différent, vraisemblablement lié à la vision des couleurs.

Afin d'interpréter nos résultats, une étude détaillée des pigments visuels (rhodopsine, porphyropsine, des bâtonnets, iodopsine, et cyanopsine des cônes) a été faite, avec examen des travaux antérieurs, apport de résultats histochimiques personnels, et confrontation de ces derniers avec les travaux (morphologiques, physiologiques, électriques) les plus récents.

Au cours de cette mise au point, les méthodes de préparation et d'extraction des pigments ont été rappelées, ainsi que les travaux sur leurs constitutions chimiques, leurs comportements au cours de la conservation, du vieillissement. Enfin leurs cycles métaboliques et leur synthèse biochimique ont été retracés. De l'examen des acquisitions nouvelles quelques remarques ont été présentées sur la vision des couleurs. Elles ont été suggérées par nos résultats de localisation directe, et par leur confrontation avec les recherches récentes de Svaetichin, Peiper, Granit et Trincker etc... Nous avons complété ces résultats histochimiques chez la Grenouille, par une étude expérimentale de la physiologie de la rétine chez le même animal, dans des conditions d'éclairage et de technique en rapport avec la sensibilité de l'oeil et la vision des couleurs.

Pour bien saisir la physiologie de la vision colorée, le développement de l'appareil visuel à travers les espèces animales jusqu'à l'Homme et son évolution dans le temps et durant le développement ontogénique ont été examinés, ainsi que le développement embryonnaire des cellules visuelles de l'Homme, jusqu'à la naissance, et le début de l'acquisition de la vision colorée chez les prématurés, le nourrisson et l'enfant.

Le développement des cellules visuelles chez la Grenouille, comme chez l'Homme débute par le stade commun des cônes, pouvant permettre une vision première, puis viennent leur différenciation et leur maturation en cônes définitifs et en bâtonnets, plus spécifiquement adaptés pour la vision de lumière et des couleurs, la distinction des

couleurs étant liée au développement du système nerveux. Cette évolution analogue chez les Vertébrés inférieurs et chez l'Homme, montre que Grenouille et Enfant peuvent percevoir quatre sortes de couleurs apparaissant chez eux dans l'ordre suivant : d'abord le jaune, couleur moyenne du spectre, puis le vert le bleu, et enfin le rouge, ce qui constitue ainsi un mode de vision tétrachromatique et non trichromatique selon la théorie Young et Helmholtz.

Nous avons entrepris alors, des recherches histophysiologiques préliminaires chez la Grenouille Rana esculenta L. pour étudier les réponses des cellules visuelles avec des lumières blanches et colorées, dans des conditions de technique définies.

Les résultats montrent qu'en lumière blanche, les bâtonnets de deux types, classique et de forme "massue", sont très sensibles, le premier particulièrement. Ils présentent, de plus, sous l'action d'une forte lumière, des modifications cytologiques dans les segments externe et interne.

Au contraire, les cônes sont peu sensibles et peu modifiés dans leurs segments externes, restés bien colorés. Cette résistance a permis leur meilleure observation et leur classification en quatre types différant par leur forme et rangés par ordre de taille, décroissante, I, II, III, IV, (le type I ayant le premier attiré notre attention au cours de l'étude sur l'orangé transitoire avec la lumière bleue au niveau des bâtonnets).

La description typique détaillée dans notre travail correspond à celle des rétines de sujets gardés à l'obscurité pendant longtemps, afin d'éviter les variations de dimension et de forme.

Les résultats chez la Grenouille après action des lumières colorées sont les suivants ; les quatre types de cônes répondent préférentiellement à l'une des couleurs utilisées : bleu, vert, rouge, et postérieurement jaune - décoloration du segment externe et modifications morphologiques). Le cône du type I est sensible au bleu.

Les cônes de type II et IV sont sensibles respectivement au vert, et au rouge.

Le cône du type III n'a donné de réponse nette pour aucune des trois couleurs, bleu, vert, rouge. Mais il a nettement réagi avec la lumière jaune et à la lumière jaune à vapeur de sodium. Sa décoloration rendant son observation difficile des vérifications bibliographiques signalant l'existence d'un récepteur du jaune et l'écartant d'une forme anormale ont été effectuées : l'existence d'un récepteur du jaune est un fait réel.

Nos recherches physiologiques préliminaires chez Rana esculenta L. montrent, en résumé la dualité entre les cônes et les

bâtonnets et l'existence d'un tétramorphisme des cônes répondant préférentiellement aux couleurs monochromatiques. En plus des trois couleurs de la théorie de Young et Helmholtz, il faut donc tenir compte d'une quatrième couleur fondamentale : le jaune. De plus nous avons constaté ce fait important : les grandes longueurs d'onde agissent sur les cônes de petites dimensions et inversement.

Devant l'intérêt de ces premiers résultats physiologiques obtenus avec la seule méthode des fluorones pour la détection des nucléotides, nous avons fait des recherches nouvelles. Dans ce but des méthodes et des réactions histochimiques ont été étudiées, plus variées, plus complètes, basées sur des connaissances plus étendues de la photochimie des cellules visuelles et directement en rapport avec l'iodopsine, ses substances constituantes (photopsine, caroténoïdes, nucléotides) et les substances métaboliques de son cycle (glucides, polysaccharides et glucoprotéines).

Des réactions histochimiques nouvelles et plus nombreuses ont été mises au point et utilisées systématiquement, mais, selon le cas, une réaction histochimique sera préférée à une autre afin d'obtenir la réponse physiologique la plus nette.

Les résultats satisfaisants de l'ensemble de ces dernières réactions nous ont décidé, afin de les mettre à l'épreuve, de les appliquer dans de nouvelles recherches physiologiques, sur un matériel nouveau : la rétine du Poisson Crenilabrus melops L. et chez une autre espèce de Grenouille : Rana Temporaria L.

Mais auparavant, la formation directe des images sur la rétine a été étudiée sur un oeil de Boeuf spécialement préparé pour déterminer empiriquement les conditions techniques d'un éclairage physiologique efficace, en fonction de la source et des écrans colorés le tout étant affiné par des optogrammes colorés de Poisson.

Nous avons également étudié à l'avance, la morphologie des cellules visuelles du Crénilabre. Elle montre des bâtonnets petits et des cônes très grands de quatre types définis par leurs dimensions, leur forme, et dénommés comme chez la Grenouille, par analogie.

Les résultats comparatifs des détections systématiques concernant la sensibilité de l'oeil du Crénilabre à la lumière sont les suivants :

Les bâtonnets sont très sensibles à la lumière blanche, beaucoup moins aux lumières colorées, leur disparition favorise l'étude des cônes qui interviennent dans la vision des couleurs.

Les réponses aux couleurs des cônes du Crénilabre I, II, III, IV, sont identiques à celles de la Grenouille Rana esculenta L. avec des modifications cytologiques et des réponses spécifiques et préférentielles respectivement pour le bleu, vert, jaune et rouge.

Ces nouveaux résultats de détection systématique chez les Poissons et les Batraciens confirment donc la sensibilité des bâtonnets, les réponses spécifiques des cônes pour les lumières colorées, et notre hypothèse de la réponse en fonction inverse de la longueur d'onde, ainsi que les résultats de nos recherches préliminaires.

Le Crénilabre possède des cônes isolés de grande dimension, sensibles aux couleurs, chacun séparément. La vision des couleurs, chez le Poisson ne paraît pas être le fait des cônes doubles.

Nous avons appliqué ensuite toute la série des réactions histochimiques nouvelles sur des rétines à cônes doubles de la Grenouille Rana temporaria L. pour vérifier leur rôle possible et aussi pour renforcer nos résultats de vision tétra-chromatique et hypothèse de travail.

Les examens cytologiques, physiologiques et cytochimiques de la rétine, montrent deux espèces de bâtonnets sensibles aux lumières : le bâtonnet "massue" étant le plus résistant.

Rana temporaria L. tout comme le Crénilabre possède quatre types de cônes à l'état isolé ou associés dans les formes I et IV ou II et IV caractérisables. Tous résistent à la lumière, à la différence des bâtonnets, et répondent aux lumières colorées, chacun spécifiquement pour une couleur.

Dans les cônes associés, chaque élément garde son autonomie. La vision des couleurs chez Rana temporaria L. n'est donc pas liée aux cônes doubles ; et elle s'effectue dans le sens de notre hypothèse de travail (Réponse spécifique ou préférentielle avec rapport inverse entre dimensions et longueurs d'onde).

L'existence d'une réponse de type tétrachromatique à la fois chez la Grenouille à cônes doubles et chez le Crénilabre à cônes simples montre que la vision des couleurs chez les Vertébrés doit être liée aux quatre cônes spécifiques, qu'ils soient seuls ou couplés.

Le système de vision colorée sur la base de quatre éléments assez fréquemment observé chez les Poissons, Batraciens, Vertébrés inférieurs, pourrait être étendu aux Mammifères, Primates et à l'Homme, car de nombreux travaux physiologiques ont montré chez eux l'existence d'une perception spécifique des couleurs dans une gamme étendue et souvent de base tétrachromatique. Etant donné que l'évolution de l'organe visuel des Vertébrés, ainsi que leur acquisition parallèle de la vision des couleurs vont dans le même sens : concordance de l'évolution de la Grenouille et de l'Enfant (Birukow, Paiper, Trincker), on devrait trouver chez les Mammifères différentes espèces de cônes.

Nous avons fait des recherches morphologiques chez quelques Vertébrés, Mammifères et chez l'Homme pour relever la présence éventuelle de quatre types de cônes. Si la base tétrachromatique d'une vision colorée chez les Mammifères et l'Homme a été prônée et affirmée par beaucoup de travaux physiologiques, la base morphologique manque encore.

L'observation la plus ancienne de Greeff (1899) montre chez Le Poisson Leuciscus aula quatre espèces de cônes de taille différente. A part cette observation les auteurs classiques signalent l'existence de cônes simples ou de cônes doubles chez les Vertébrés cônes jumeaux et cônes doubles chez les Poissons, cônes simples et cônes doubles de trois types chez les Serpents ; mais, au niveau des Mammifères, Primates et de l'Homme, la littérature signale seulement une homogénéité morphologique ou, tout au plus un dimorphisme, chez les Oiseaux, Léopard et Serpents.

Cette divergence morphologique chez les Mammifères et chez l'Homme par rapport aux autres Vertébrés, que les physiologistes ont démontrés comme possédant une très bonne perception des couleurs, mérite des recherches nouvelles. D'ailleurs nos recherches morphologiques ont confirmé la fonction de la vision colorée de base tétrachromatique des Vertébrés en montrant quatre types de cônes chez le Poisson Crénilabre et chez les Grenouilles, Rana esculenta L. et Rana temporaria L. Si nous nous plaçons du point de vue de la continuité de l'évolution de l'appareil visuel et de son acquisition des couleurs à travers les espèces animales (à part quelques exceptions dues au mode de vie), on devrait retrouver autant de types de cônes fonctionnels qu'il y a de couleurs fondamentales.

Devant cette idée directrice, jointe à des indices de polymorphisme des cônes selon leur position sur la rétine humaine (Policard) nous avons fait des recherches supplémentaires chez quelques Mammifères et chez l'Homme en utilisant la coloration à l'hématoxyline dans des conditions particulières. (Nous avons constaté que sur les coupes de rétine normalement colorées certains cônes ne ressortent pas, tandis que sur des coupes longtemps oubliées dans l'alun, ils apparaissaient plus nettement).

Grâce à cette technique de coloration nous avons trouvé : chez le Lapin, quatre types de cônes à peu près analogues à ceux de la Grenouille ; chez le Taureau également, mais plus ramassés et trapus. Le type IV est assez bien représenté, le type III est petit, les autres moins allongés et plus ramassés. Chez le Singe Cynocéphale on trouve quatre types semblables à ceux de la Grenouille. Chez l'Homme, les quatre types sont présents, mais assez inégalement répartis, généralement semblables à ceux de la Grenouille, sauf le type III plus gros et plus ramassé.

Ces dernières recherches n'ayant qu'une valeur d'orientation, ont seulement le but de démontrer l'existence possible, au niveau des rétines des Mammifères, des quatre types de cônes qui suggèrent une vision sur une base tétrachromatique.

En résumé notre travail apporte :

D'une part les réactions histochimiques nouvelles et variées pour l'étude des pigments visuels, une mise au point sur leur nature chimique, leur cycle métabolique et leur synthèse biochimique, et une méthode nouvelle de détection histochimique directe et systématique (par le jeu des réactions) permettant l'exploration des fonctions des cellules visuelles, basée non pas sur les réactions colorées elles-mêmes, mais sur leurs propriétés biologiques fondamentales de photosensibilité.

D'autre part, après une mise au point de l'évolution et du développement de l'appareil visuel à travers les espèces animales et chez l'Homme, ainsi que de leur acquisition progressive des perceptions colorées, nous avons apporté des résultats morphologiques, physiologiques et histochimiques expérimentaux sur la physiologie de la vision, avec l'étude de la sensibilité de l'œil et de la vision des couleurs, chez les Vertébrés, Batraciens et Poissons dont la rétine se rapproche le plus de celle de l'œil humain.

Nos résultats montrent directement que le rôle des bâtonnets est en rapport avec la vision de la lumière blanche et de la clarté, mais que certains peuvent être influencés par les lumières colorées : les bâtonnets "massus" de différente hauteur, légèrement plus résistants à la lumière blanche, pourraient intervenir dans la sensibilité chromatique des bâtonnets signalés par Triicker, Bironkow Granit etc.

Le rôle des cônes, souvent de quatre types chez les Vertébrés, doit être en relation avec la perception des couleurs. Chez le Poisson (Crénilabre) à cônes simples, les quatre types de cônes de différentes dimensions ont répondu de façon spécifique et préférentielle aux couleurs, en fonction inverse des longueurs d'onde excitatrices.

Chez les Grenouilles, les cônes simples ou couplés ont montré des réponses identiques conformes à nos résultats antérieurs et à notre hypothèse de travail, et ont montré de plus, de façon directe, que la vision des couleurs n'est pas le fait des cônes doubles comme l'a cru Svaetichin, les cônes doubles ont des rapports très étroits avec la vision colorée, mais chacun des éléments répond à la couleur pour laquelle il est sensible, et il se comporte alors comme s'il était isolé, et entre dans le cadre de notre hypothèse sur la sensibilité des éléments de différentes dimensions en rapport inverse avec des longueurs d'onde.

Nos résultats montrent aussi que la vision des couleurs chez les Vertébrés inférieurs, doit être généralement de base tétrachromatique. Ce système de vision serait représenté par quatre types de cônes différant surtout par leur taille et leur forme, il pourrait être étendu aux Mammifères comme le montre notre tentative morphologique, et peut-être à l'Homme.

Si notre hypothèse de travail se vérifie, ce serait un argument de plus en faveur d'une base histologique pour l'existence d'une vision tétrachromatique, qui permettrait d'expliquer les résultats et les progrès dans le domaine de la photographie où la couleur jaune joue un rôle important. La disposition des cônes en quatre étages dans la couche des cellules visuelles formant quatre couches composantes, successivement sensibles au rouge, jaune, vert et bleu, peut rappeler les couches d'une émulsion photographique de couleur, avec, en plus, la couche des bâtonnets qui pourrait correspondre à la couche du noir et blanc des émulsions. Cette ressemblance avec le film photographique doit être conforme à la réalité, car l'examen de l'œil expérimental du Boeuf a montré que le système oculaire se comporte véritablement comme un appareil photographique, dont la rétine serait la plaque sensible aux lumières et aux couleurs.

TABLE DES MATIERES

=====

Introduction	1
I - HISTORIQUE DE NOS METHODES ET TECHNIQUES HISTOCHIMIQUES DES FLUORONES QUI NOUS ONT AMENE A L'ETUDE DE LA RETINE	3
II - APPLICATION DES FLUORONES AU COURS DE REACTIONS CYTOPLASMALE ET NUCLEOTIDIQUE A L'ETUDE HISTOCHIMIQUE DU CRISTALLIN ET DE LA RETINE, CONCURREMMENT A D'AUTRES TECHNIQUES	10
A - Matériel, technique et méthode de recherche	10
B - Etude histochemique du cristallin	12
C - Etude histochemique de la rétine	13
III - ETUDE DES PIGMENTS VISUELS	17
A - Pigments des bâtonnets - Rhodopsine, Porphyropsine	17
I/ Travaux sur la rhodopsine. - Historique	19
- Recherches personnelles	21
- Travaux plus récents	27
a) Travaux de Walls	28
b) Travaux de biochimistes	29
Obtention et constitution du pourpre	29
Régénération du pourpre	31
Conservation et vieillissement du pourpre	34
Cycle du pourpre	37
Synthèse de la vitamine A et du pourpre	42
II/ Travaux sur la Porphyropsine	43
Synthèse de la Porphyropsine	43
III/ Présence et rôle des lipides et des glucides	44
Les lipides	45
Les glucides	47
B - Pigments des cônes: iodopsine et cyanopsine	48
I/ Historique	49
II/ Recherches personnelles	55
III/ Travaux plus récents	58
a) Travaux sur l'iodopsine	58
Cycle de l'iodopsine	58
Synthèse de l'iodopsine et de l'isiodopsine	59
b) Travaux sur la cyanopsine - sa synthèse	60
IV/ Nos résultats à la lumière des acquisitions récentes, re- marques sur la vision des couleurs	61
a) Remarques sur l'absorption de l'iodopsine et la loi de Grothus et Drapper	61
b) Remarques sur la parenté chimique des substances des cônes et des bâtonnets - l'orangé transitoire	64
c) Confrontation de nos résultats avec les recherches : Svaetichin, Peiper, Granit, et Trincker	66

IV - ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA RETINE - SENSIBILITE DE L'oeil ET VISION DES COULEURS A L'AIDE DES REACTIONS HISTOCHIMIQUES ..	71
A - Généralités	71
I/ Appareil de la vision à travers les espèces animales	73
II/ Evolution de l'appareil de la vision en vue de l'acquisition d'une perception des couleurs	86
B - Recherches histochimiques préliminaires à l'aide des fluo- rones-Réponse physiologique des bâtonnets et des cônes	99
I/ Etude de la sensibilité de l'oeil à la lumière blanche ...L...	100
a) Matériel	100
b) Technique	100
c) Résultats avec la lumière blanche	101
II/ Etude de la réponse des cellules visuelles aux lumières colorées	102
a) Les différents types de cônes de la Grenouille	102
(Rana esculenta)	
b) Particularités techniques	104
c) Résultats avec les lumières colorées	105
C - Recherches récentes sur la physiologie de la rétine avec des méthodes et réactions histochimiques nouvelles	114
I/ Principe et méthode	114
II/ Nouvelles réactions histochimiques des pigments rétinien et des produits métaboliques de leurs cycles	117
a) Détection des protéines, de la rhodopsine et de l'iodopsine	118
b) Détection des nucléotides à ribose au niveau des cellules visuelles	120
c) Détection des caroténoides des cellules visuelles et de la rétine	120
d) Détection des polysaccharides au niveau des cellules vi- suelles	122
e) Détection par la coloration signalétique à l'azocarmin	123
f) Détection des lipides liés par le bleu lumière	123
III/ Application des nouvelles réactions des pigments visuels et des produits métaboliques de leur cycle à l'étude histophy- siologique de la rétine, chez le Poisson et la Grenouille - Sensibilité de l'oeil et vision des couleurs	124
a) Etude de la formation des images et leur situation dans la rétine	124
b) Etude histophysiologique de la vision chez le Poisson <u>Creni- labrus Melops</u> L. Réponses des bâtonnets et des cônes	126
I.- Etude de la sensibilité de l'oeil - Détection histochimique des substances visuelles, leur comportement dans la rétine du Crénilabre à la lumière blanche	127
1) Les cellules visuelles de la rétine du <u>Crenilabrus melops</u> ..	127

2) - Résultats comparatifs de la détection histochimique des substances visuelles dans la rétine du Crénilabre exposé à la lumière blanche	129
Résumé des résultats avec les différentes réactions	134
II - Etude de la vision colorée chez le Poisson - Réponses de la rétine du Crénilabre aux lumières colorées	135
1) Conditions de techniques pour l'étude des cônes avec les lumières colorées	136
2) Observations histochimiques sur le comportement des cônes du Crénilabre avec les lumières colorées	136
a) Résultats avec la lumière bleue	136
Résumé des résultats avec les différentes réactions	139
b) Résultats avec la lumière verte	139
Résumé des résultats avec les différentes réactions	141
c) Résultats avec la lumière jaune	141
Résumé des résultats avec les différentes réactions	143
d) Résultats avec la lumière rouge	144
Résumé des résultats avec les différentes réactions	145
III - Résumé de nos observations sur la vision du Poisson	
Sensibilité de l'oeil et vision des couleurs	146
C) Etude de l'histophysiologie de la Grenouille (<u>Rana temporaria</u> L.)	
Réponses aux lumières blanches et colorées	148
I/ Etude des cellules visuelles de <u>Rana temporaria</u> L.	148
II/ Etude de la sensibilité de la rétine de Grenouille <u>Rana temporaria</u> à la lumière blanche	151
1) Conditions de techniques	151
2) Résultats comparatifs de la détection de la rétine de Grenouille exposée à la lumière	152
III - Etude de la rétine de Grenouille, <u>Rana temporaria</u> - vision des couleurs - réponses des cônes aux lumières colorées	155
a) Résultats avec la lumière bleue	155
b) Résultats avec la lumière verte	157
c) Résultats avec la lumière jaune-lampe vapeur de sodium	159
d) Résultats avec la lumière rouge	160
IV - Résumé de nos observations sur la vision de la grenouille <u>Rana Temporaria</u> - Sensibilité de l'oeil et vision des couleurs	161
V - RECHERCHES MORPHOLOGIQUES SUR LA PRESENCE DE QUATRE TYPES DE CONES CHEZ QUELQUES VERTEBRES, MAMMIFERES, ET CHEZ L'HOMME ...	164
CONCLUSION	174

B I B L I O G R A P H I E

- DORFF G. - Einige Bemerkungen über den Farbensinn der Tag-und-Nachtvögel., Arch. für Augenheilkunde, Bd. 58, pp. 64-66, 1907.
- M H, et GALLWITZ U.- Zur Vergleichenden Physiologie, Bd. 33, P. 407, 1951. In TRINCKER, D. Wiss. Zeits. d. Ernst Moritz Arndt-Univ. Greifswald, N° 2, pp. 89-98, 1954-1955.
- ., - Weitere Untersuchungen über die Kerne der Augenmuskelnerven, Arch. f. Ophthalm., Bd. 49,2, pp. 266-302, 1899.
- ANI -, Leçons sur la génération des Vertébrés, Paris, 1879.
- S., COLLINS F.D., MORTON R.A., et STAUB A.L. -, Nature, London, 161, P. 424, 1948. In MORTON, GOODWIN - (Carotenoids and Vitamin A), Bri. Med. Bull., vol. 12, pp. 37-43, 1956.
- V.-, Über das Farbenunterscheidungsvermögen der Fische, Arch. Ges. Physiol., Bd. 133, pp. 7-26, 1910, et 137, pp. 622-626, 1911.
- ARDT E. -, Les théories photochimiques classiques et quantiques de la vision et l'inhibition nerveuse en vision liminaire, Rev. d'Opt., t. 28, 1949, C.R. Soc. Biol., t. 143, p. 786, 1949.
- J.- Facteurs Internes et externes de l'activité sexuelle. II. Etude du mécanisme de la stimulation par la lumière de l'activité testiculaire chez le Canard domestique. Rôle de l'hypophyse, Bull. Biol. Fr. et Belg; Vol. 71, p. 393, 1937.
- P.- La présence des caroténoïdes dans le noyau des cellules rétiniennes, C.R. Soc. Biol., t. 144, p. 606, 1950.
- P. et SEGAL J.- Spectre d'absorption de l'orangé transitoire de la rétine, C.R. de Biol., t. 144, p. 478, 1950.
- W G.- Purkinjesches Phänomen und Farbensehen beim Grasfrosch (*Rana temporaria*), Zeits. f. vergl. Physiol., Bd. 27, pp. 41-79, et Bd. 27, pp. 322-334, 1939.
- A. F. (Von),- J. gen. Physiol., t. 29, p. 277, 1946, J. biol. Chem., t. 172, p. 165, 1948, Biol. Bull., Wood's Hole, t. 97, p. 221, 1949.
- A. - Les Acides nucléiques. C.R. Soc. de Biol., t. 142, pp. 1258-1274 - 1948.

BOLL F. -

Sull'anatomia e fisiologia della retina, Atti della R. Acc. dei Lincei, I sez. 2, p. 371, 1876-77. ; et Zur Anatomie und Physiologie der Retina, Monatsber. d. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, 1876-77.

BORNSCHEIN H. et VILTER V. - Exploration électrophysiologique et histologique de la rétine d'un Mammifère nocturne, le Loir, C.R. Soc. Biol., t. 148, pp. 525-528, 1954.

BRACHET J. -

La localisation des acides pentose-nucléiques dans les tissus animaux et les oeufs d'Amphibiens en voie de développement, Arch. de Biol., t. 51, pp. 167-202, 1940 ; et 53 pp. 207-257, 1941 ; Enzymologia, t. 10, pp. 87-96, 1941.

BROWN R.H. -

Colour vision in the Rabbit, Journ. gen. Psychol., Vol. 14, pp. 83-97, 1936.

BUDDENBROCK W. et FRIEDRICH H. - Neue Beobachtung über die Kompensatorischen Augenbewegungen und den Farbensinn der Taschenkrebber (Carcinus moenas), Zeits. für vergl. Physiol., Bd. 19, pp. 747-761, 1936.

CAJAL R. -

La rétine des Vertébrés, la Cellule, 1892 ; et t. 9, p. 119, 1893.

CASPERSSON T. et Coll. -

Naturwiss., t. 29, pp. 29-30, 1941. In BRACHET, 1941.

CASTEL P. -

Contribution à l'étude histochimique de la localisation de certaines substances médicamenteuses ou toxiques. Thèse pharmacien supérieur, n° 26, Montpellier 1935.

CHASE et AURIN M. -

Photosensitive pigment of the retina of Frog, Science, Vol. 87, p. 238, 1938.

COLLINS F.D. -

Nature, London, t. 171, p. 469, 1953 ; et Biol. Rev., t. 29, p. 453, 1954. In COLLINS, LOVE, MORTON - 1952 b.

COLLINS F.D., LOVE M.,

MORTON R. - Studies in Rhodopsin, Biochem. J. t. 52, p. 52, p. 669, 1952 b.

ARTNALL H. J. A. , -

New photosensitive pigments from the tench retina, Nature, t. 166, pp. 207-209, 1950.

ARTNALL H.J.A.,

GOODEVE C.F. et LYTHGOE R.J., - The effect of temperature on the photochemical bleaching of visual purple solutions, Proc. Roy. Soc., t. 164, p. 216, 1938.

JEAN CH.,

HERVOUET FR., LEPLAT G. - L'embryologie de l'oeil et sa tératologie, Masson Edit., Paris, 1958.

- DEJEAN CH., TURCHINI J., PAYCHA FR., KHAU VAN KIEN L., - Etude comparative des résultats de Kératoplastie avec greffon conservé dans une solution d'acide ribonucléique et de nucléotide à ribose, Bull. de la Soc. d'Ophtalmo de Fr., pp. 520-523, 1953.
- DELABY R. ET GAUTIER J.A. - Analyse qualitative minérale à l'aide de stiliréactions, Masson Edit., 1940.
- DETWILER S.R. - Studies on the retina - Observations on the rods of nocturnal mammals, J. Comp. Neurol., Vol. 37, p. 481, 1924.
- DETWILER S.R. - Vertebrate photoreceptor, Exp. Biol. Monography, 1943.
- DETWILER S.R. et LAURENS H. - Studies on the retina, the structure of retina of *Phrynosoma cornutum*, J. Comp. Neurol., t. 32, pp. 347-356, 1920.
- DONNER K.O. - J. Physiol., t. 122, p. 524, 1953. - In SVAETICHIN, 1956.
- DUBOIS R. - De la fonction photogénique chez la *Pholas dactylus*, C.R. de l'Acad. des Sc., t. 105, p. 690, 1887.
- DUBREUIL G. - C.R. de l'Assoc. des Anat., 34^e Réunion, (Discussion), p. 264, 1947.
- DUCKERT R. - Recherches sur les réactifs organiques susceptibles d'application à l'analyse minérale. La 9 méthyl, 2, 3, 7 trihydroxy, 6 fluorone, réactif spécial des cations de l'antimoine, Helv. Chim. Acta, t. 20, p. 362, 1937.
- EULER (VON) H. et Coll. - Bull. Soc. Chim. Biol., t. 29, p. 382, 1947.
- FRANCIS C.M. - Lipide in the retina, J. Comp. Neur., t. 103, p. 355-384, 1955.
- FRIDERICIA et HOLM - in LEGRAND Y., Optique physiologique, Revue d'Optique Edit., Paris, 1956.
- FROHLICH FR. W. - Beiträge zur allgemeinen Physiologie der Sinnesorgane, Zeitschr. f. Sinnesphysiol., t. 48, 1913.
- FRICH (VON) K. - Sind Fische farbelblind ?, Zool. Jahrb. f. allg. Zool. und physiol. der Tiere, Bd 33, pp. 107-126, 1912.
- Ibid. -- Über farbige Anpassung bei Fischen, Zool. Jahrb. Abt. für allg. Physiol. und Zool. der Tiere, Bd. 32, pp. 171-230, 1912.
- Ibid. -- Das Problem des tierischen Farbensinnes, Naturwiss., t. 11, 24, pp. 470-476, 1923.
- GARTEN S. - Ueber die Veränderungen des Sehpurpurs durch Licht, Arch. für Ophtalmo., t. 63, I, p. 112, 1906.

- GARTEN S.- Bemerkungen zu dem Aufsatz von D. FRITZ SCHANZ: Das Sehen der Farben, Zeits.f.Augenheilkunde, t. 47, 4, pp. 187-190, 1922.
- GOODEVE G.F., LYTHGOE R.J. Et SCHNEIDER E.- Proc. Roy. Soc.A., t.180, p.102, 1939, In SVAETICHIN, 1956.
- GRABER V.- Fundamentalversuche ueber die Helligkeit und Farbenempfindlichkeit augenloser und geblendeter Thiere, Sitzungsber. der K.Akad. Wien, 1883-1885.
- GRANIT R.- Die Elektrophysiologie der Netzhaut und des Sehnerven mit besonderer Berücksichtigung der theoretischen Begründung der Flimmermethode, Acta Ophtholm., Suppl. 8, p.98, 1936.
- Ibid.--- The electrophysiological analysis of the fundamental problem of colour reception, Proc. Phys. Soc., t. 57, p.447, 1945.
- GRANIT R. et WREDE C.M. - The electrical responses of light adapted frogs' eyes to monochromatic stimuli, Journ. Physiol., Vol.89, pp.239-256, 1937.
- GRANIT R. et MUNSTERHJELM A. - Journ. Physiol., t88, p.136, 1937. In Segal, 1953.
- GRANIT R. et SVAETICHIN G. - Principles and technicals of the electrophysiological Upsala Lakareförs. Förh. hy. följf., Bd. 45, pp. 161-177, 1939.
(analysis of colour reception with the aid of microelectrodes).-
- GREEF R. - Die mikroskopische Anatomie des Sehnerven und der Netzhaut, Graefes Seemisches Hdb II, Aufl. Bd I, Kap.5, 1889.
- HAMILTON W.F. . A direct method of testing color vision in lower animal, Proc. of the nat. Ac. of SC. U.S.A., t.8, 12, pp.350-353, 1922.
- HAMILTON W.F. et COLEMAN T.B.- Trichromatic vision in the pigeon as illustrated by the spectral discrimination curve, Journ. Comp. Psych. Vol. 15, pp. 183-191, 1933.
- HANSTROM E. - Acta Ophtholm., Kbh., t, 18, p.21, 1940. In SEGAL, 1953 -
- HARTRIDGE H. Proc. Roy. Soc. B., t. 232, p. 519, 1947. In SEGAL 1953 -
- Ibid.--- Recent advances in the physiology of vision, Churchill Edit., London 1950.
- HECHT S. - The photochemical nature of the photosensory process, Journ of gen. Physiol., t.II, 3, p. 229, 1920.
- HECHT S. - The Chemistry of Vision, In Modern treatise in Ophthalmology, Ridley, Sorsby Edit., London, 1940.

- HELMHOLTZ H. - Ueber die Accomodation des Auges, Arch. f. Ophtalm., t. I, 2, pp. 1-74, 1855; et Optique physiologique, Paris 1867.
- HELMHOLTZ H.- Handbuch der physiologischen optik, 3 Aufl, Gulls- trand, Von Kries, Nagel Edit., Hamburg-Leizig, 1909-1911.
- HENNING H. - Optische Versuche an Vögel und Schildkröten ueber die Bedeutung der roten Oekugeln in Auge, Pflüger"s Arch. der ges. Physiol., t. 178, 1920.
- HENRY et STACEY - Nature, t. 151, p. 671, 1943; et t. 156, p. 720, 1945.
- HESS C. (Von) - Untersuchungen über den Lichtsinn und Farbensinn bei Tagvögeln, Arch. f. Augenheilkund. t. 57, p. 4, 1907.
- Ibid.--- Untersuchungen zur Physiologie und Pathologie des Pupillenspieles, Arch. f. Augenheilkund. t. 60, p. 327, 1908.
- HESS C. (Von) - Untersuchungen über den Lichtsinn der Fischen, ibid. E.H., pp. 1-38, 1909.
- Ibid--- Methoden zur Untersuchung des Licht-und Farbensinnes sowie des Pupillenspieles, Hdb. der Biologischen Arbeitsmethoden, Abderhalden Edit, Berlin, 1921.
- HESSE R. - Die Organe der Lichtempfindung bei den Lumbriciden, Zeitz. f. wiss. Zool., t. 61, pp 393-419, 1895.
- HONIGMANN H.- Untersuchungen Über Lichtempfindlichkeit und Adaptierung des Vögelgelauges, Pflüger"s Arch. f. d. ges. Physiol., t. 189, pp. 1-3, 1921.
- HOSOYA H. - Ueber die Altersverschiedenheit der Ultraviolettabsorption der menschlichen Augemedien, Toh. H. exp. Med., t. 13, p. 510, 1929.
- HOSOYA Y. et SAITO - Toh. J. exp. Med. t.27, p. 172, 1936. - In LE GRAND, Y.
- HOSOYA Y., OKITA T et OKUNE T.- Ibid., t. 34, p. 532 , 1938. - In SEGAL 1953.
- HUBBARD R. - Mechanism of rhodopsine synthesis, Fed. Proc., t. 10, I, 1951, et t. 14, p. 229, 1955.
- HUBBARD R. et WALD G.- Mechanism of rhodopsine synthesis, Proc. Nat. Acac. Sc., t. 37, pp. 69-79, 1951, et J. gen. Physiol., t. 36, p. 69, 1952 -
- HUBBARD C.D. et WALD G.- Science, t. 60, p. 115, 1952, Ibid.
- ILSE (Von)- In Trincker D.- Zur Entwicklung des Farbensinnes, Wiss. Zeits. d.

Moritz Arndt - Univ. t IV, p. 89; 1954-1955.

CHER O.- Ueber Grosshirn extirpationen bei Papagaien, Sitzungsber. d. Preuss. Akad. d. wiss., t. 8, 2, pp. 722-726, 1900; et pp. 428-439, 1901.

id-- Weitere Mitteilung über Ergebnisse der Dressur als physiologischer Untersuchungsmethode auf den Gebieten der Gehör-Geruchs und Farbensinnes, Arch. f. Physiol., pp. 303-322, 1909.

P. - Rétines sans cellules visuelles, Thèse Doct. Med., Strasbourg 1952.

TKUN - In TRINCKER, Wiss. Zeits.d. Ernst Moritz Arndt-Univ. Greifswald, 1954-1955.

M. et BOURNE M.C. - Glycolysis in retinal extracts, Biolchem. J., Vol. 34, p. 563, 1940.

VAN KIEN L.- De quelques fluorones - Leurs propriétés chimiques et biologiques, leur application à la localisation des médicaments anti-moniés dans l'organisme., Thèse Doct. d'Etat en Pharmacie, Montpellier 1945.

VAN KIEN L. - Contribution à l'étude de l'action des fluorones sur les acides nucléiques cellulaires et sur quelques sucres. (En collaboration avec TURCHINI J. et CASTEL p.) Travaux de la Soc. de Chim. Biol., t. 25, pp. 1329-1335, 1943.

VAN KIEN L. - Controbuton à l'étude histochimique de la cellule, une nouvelle réaction nucléale, (En Collaboration avec TURCHINI J. et CASTEL P.), Bull. d'Hist. Appl., t. 21 pp. 124-127, 1944.

VAN KIEN L.- Précisions techniques sur les conditions optima assurant à la réaction de Turchini, Castel et Khau Van kien des résultats constants et réguliers, Bull. Acad. des Sc. et Let., Sect. Sc, N° 77, mai 1947.

VAN KIEN L.- Etude de quelques fixateurs en vue de la détection cytochimique de certaines inclusions nucléoprotidiques ou glucidiques cytoplasme par la 9 phényl, 2, 3, 7 trihydroxy 6 fluorones, (Ibid), Nov. 1947.

VAN KIEN L; et SENTAIN P. - Sur l'application de la réaction de Turchini, Castel et Khau Van Kien à l'étude de la spermatogenèse, C.R. de l'Assoc. des Anat., 34° Réunion, Paris, pp. 264-267, 1947.

- VAN KIEN L. et SENTÉIN P. - Remarques sur les modifications chimiques de la tête du spermatozoïde, C.R. de l'Assoc. des Anat., 35° Réunion, Strasbourg, pp. 193-197, 1948.
- VAN KIEN L. et SENTÉIN P. - D'un problème posé par la structure chimique de la tête du spermatozoïde, Ibid, 37° Réunion, Louvain, pp. 253-258, 1950.
- VAN KIEN L. - Réactions nucléales au niveau de quelques éléments de l'oeil et leur étude histochimique, C.R. de l'Assoc. des Anat., 38° Réunion, Nancy, pp. 617-624, 1951.
- VAN KIEN L. - Dérivés ribonucléiques au niveau des cônes et des bâtonnets et leur étude au cours de la photolyse, C.R. de l'Assoc. des Anat. 39° Réunion, Clermont-Ferrand, pp. 704-709, 1952.
- VAN KIEN L. - Contribution à l'étude de l'histophysiologie de la rétine, C.R. de l'Assoc. des Anat., 40° Réunion, Bordeaux, pp. 907-919, 1953.
- VAN KIEN L. - Contribution à l'étude de l'histophysiologie de la rétine, en particulier de divers types de cônes chez la Grenouille et de leurs réponses après action de lumières colorées monochromatiques, C.R. de l'Assoc. des Anat. 41° Réunion, Gênes, pp. 673-686, 1954.
- VAN KIEN L. - Contribution à l'étude de l'histophysiologie de la rétine, étude des cônes chez Quelques Mammifères et chez l'Homme, C.R. de l'Assoc. des Anat., VI° Congrès fédératif Internat. d'Anatomie, Paris, pp. 690-698, 1955.
- VAN KIEN L. - Contribution histochimique à l'étude de l'histophysiologie de la rétine, C.R. de l'Assoc. des Anat., 46° Réunion Montpellier; 1959 (Sous presse).
- NOGORSKI - In TRINCKER D., Wiss. Zeits. der Ernst Moritz Arndt-Univ. Greifswald, 1954-1955.
- SE A. - The biochemistry of the eye, J. W. Jenkins Press., Baltimore, p. 264, 1934.
- S J. (Von) - Ueber dem Einfluss der Adaptation am Licht und Farbenempfindung und Funktion der Stäbchen, Ber. naturwiss. Gesell. Freiburg, t.9, pp. I-14, 1894, -Zeits. f. Psychol., t.9, p. 81, 1895, et Arch. f. Ophtalm., 42, p. 95, 1896.
- E W. - Ueber den Sehpurpur - Untersuchungen a. d. Physiol. Inst. zu Heidelberg, Bd. I, pp. 15-103, 1877.

- KUHNE W.- Chemische Vorgänge in der Netzhaut, Hermann's Hdb. der Physiologie, t. 3, p. 235, 1879.
- KUNHNE W. et SEWALL H. - Zur Physiologie des Sehepitals, in besonder der Fische, Untersuchungen a. d. Physiol. Inst. zu Heidelberg, Bd III, p. 89, 1880.
- LAMOTTE M. et VILTER V. - Cycle écologique et photosensibilité rétinienne chez *Nectophrynoides occidentalis*, Proc. XIV Intern. Congr. of Zool. Copenhagen, 1953, p. 316, 1956.
- LARDY, HANSEN et PHILLIPS - Arch. Biolchem., t. 6, 41, 1945.
- LASHLEY K. - The colour vision of birds, The spectrum of the domestic fowl, Journ. Anim. Behavior, Vol. 6, pp. 1-26, 1916.
- LARI SAXEN - An atypical form of the double visual cell in the Frog (*Rana temporaria*), Acta Anatomica, Vol. 19, 1953.
- LASAREFF - In LE GRAND Y; Optique physiologique, 1946.
- LEBOUCQ G.- Contribution à l'étude de l'histogenèse de la rétine chez les Mammifères, Arch. Anat. Micros., t. 10, p. 1909.
- LE GRAND Y. - Optique physiologique, Rev. d'Opt. Edit., Paris, 1946.
- LEBERMANN et LINDENBAUM - Ueber die Condensation des Oxyhydrochinon mit aldehyden, Ber. deutsch. Chem. Ges., t. 37, pp. 1177 - 2731, 1904.
- LEVIN M. - Recherches sur les stilliréactions de l'antimoine. Thèse doct. Univ. Pharm., Paris, 1930.
- LILLIE R.- Histochemical studies on the retina, Anat. Record, t. 112, pp. 487 -495, 1952.
- LOEB J. - Heliotropismus der Thiere, Pflüger's Arch. der Ges. Phys., t. 47, 1890.
- LOEB J. - The blindness of the cave fauna and artificial production of blind fish embryos by heterogeneous hybridization and by low temperature, biol. Bull., t. 29, pp. 50-67, 1915.
- LYTHGOE R.J. - J. Physiol., t. 89, p. 740, 1937. In LE GRAND Y. Optique Physiologique (1946) -
- LYTHGOE R.J. et QUILLIAM J.P. - The relation of transient orange to visual purple and indicator yellow, J. Physiol., t. 94, pp. 399-400, 1938.

- MAGITOT A. - L'apparition précoce du reflexe photomoteur au cours du développement de l'oeil, Ann. d'Oc., t. I4I, p. I6I, I909, et Etude sur le développement de la rétine humaine, Ibid, t. I43, p. 24I, I9I0.
- MAJIMA K. - Studien über die Struktur der Sehzellen und der Pigment-epithelzellen der Froschnetzhaut, Graefes Arch. Ophtal., t. II5, pp. 286-304, I925.
- MANDEL P., NORDMANN J. et ZIMMER J.- Acide nucléique du cristallin C.R. Acad. Sc. t. 228, p. 5I6, I949.
- MANN T. - Biolchem J., t. 39, p. 45I, I945; In MANN, PIRIE, TANSLEY, WOOD, I946 -
- MANN T., PIRIE A., TRANSLEY K. et WOOD C.- Some effects of vitamin A deficiency on the eye of the Rabbit, Amer. J. Opht., Vol. 29, p. 80I, I946.
- MARZA - Structure et histochimie du spermatozoïde, Bull. Hist. Appl., Vol. 8, p. 85, I93I.
- MORIGARD R. - De la synthèse de l'acide thymonucléique dans les chromosomes ovulaires après injection de gonadotrophine chorale à la Lapine, C.R. Soc. de Biol., t. 3, 3I, p. I40, I946.
- MORTON R.A. - J. Sc. Fd. Agri., t.6, p. 349, I955. In MORTON et GOODWIN Brit. Med. Bull., Vol. I2, pp. 37-43, I956.
- MORTON R.A. et GOOFSIN T.W. - Nature, London, t. I53, p. 405, I944. Ibid.
- MORTON R.A. et GOODWIN T.W. - Carotenoids and vitamin A, Brit. Med. Bull., Vol. I2, pp. 37-43, I956.
- MOTOKAWA K.- J. Neurophysiol, t. I2, p. 29I, et 465, 475, I949, et Abstract. of. XX° Intern. Physiological Congress, Bruxelles, p. 6662-I956. In SVAETICHIN - I956 -
- MOTOKAWA K. EBE M., ARAKAWA Y. et OIKAWA T.- Nature, LONDON, t. I67 p. 729, I95I, In SEGAL - Mécanisme de la vision des couleurs - Doin Edit. Paris I953.
- MULLER H. - Gesammelt und unterlassene Schriften, I872, Leipzig, I872.
- NATKIN M. et SCHWERIN K.- La photographie en couleur, Paris, I949.
- NAKASHIMA M. - Trans. XIII Ophtal. Congress, t.I, p. 3I7, I929. In SVAETICHIN I956

- NOELLE W.R. - The effect of Iodoacetate on the vertebrate retina, J. Cell. Comp. Physiol., Vol. 37, p. 283, 1951.
- ORBELI - Reflexes conditionnels du côté de l'oeil chez le Chien - Arch. des Sc. Biologiques, t. 14, 1907.
- OVIO G. - Anatomie et physiologie de l'oeil dans la série animale, Trad. Dejean, ALCAN Edit., Paris, 1927, et La vision des couleurs, Ibid, 1932.
- PANLJEB J. - Bull de la Soc. Chim. Biol., t. 29, pp. 1098-1106, 1947, et t. 30, pp. 116-120, 1948; pp. 336-346, 1948.
- PAPPEMEIER S. - Die speciële Gewebelehre des Auges, Preslau, 1842; et sur les yeux simples ou stemmates des Animaux articulés, Annales d'Oculistique, t. 20, p. 20, 1849.
- PARINAUD H. - La vision, Doin Edit, Paris, 1898.
- PEIPER - In Trincker, Wiss. Zeits. der Ernst Moritz Arndt-Univ, Greifswald, 1954-1955.
- PIERON H. - Le mécanisme de la vision des couleurs, Science, N° 43, p. 265, 1943.
- POLACK A. - Le chromatisme de l'oeil, Ann. d'Oc., t. 160, pp. 977-980 1923.
- POLICARD A. - Histologie physiologique, Doin Edit., Paris, 1950.
- POLYAK S.L. - The retina, Union Press, 1941, Chicago.
- PURKINJE J. - Beobachtungen und Versuche zur Physiologie der Sinne, Bd II, : Neue Beiträge zur Kenntniss der Sehens in subjectiver Hinsicht, Berlin, 1825.
- PUTTER A. - Die Augen der Wassersäugetiere, Zool. Jahrbücher, (Abt. f. Anat. u. Ontogen.) t. 17, pp. 99-402, 1902.
- RADDING C.M. et WALD G. - The stability of rhodopsine and opsine - Effects of pH and aging, Jour. Gen. Physiol., Vol. 39, pp. 923-933, 1956.
- RAEHLMANN E. - Zeits. f. Aug., t. 17, p. I, 1907. In SEGAL 1953 -
- REGAUD - Arch. Anat. Micr., t. 4, 1901, et t. II, 1910. In TOUZET 1954
- RONCHON DUVIGNEAUD A. - Les yeux et la vision des Vertébrés, Masson Edit. Paris, 1943.
- RUDDER (DE) - In TRINCKER, Wiss. Zeits. d. Ernst. Moritz Arndt-Univ., Greifswald, 1954-55.
- ST. GEORGE R. C., DURELL J., et WALD G. - Science, III, p. 179, 1950.
In MORTON et GOODWIN - Caroténoïdes and vitamin A, Brit. Med. Bul
pp. 37-43, 1956.

- CHUBERT G. et BORNSCHEIN H. - Spezifische Schädigung von Netzhautelementen durch Iodazetat., Experiencia, Vol. 7, p. 461, 1951.
- CHULTZ - Arch. Zool. Exp., t. 58, 1918, et 1920. In LEGRAND - Optique physiologique, 1946.
- CHULTZE M.- Zur Anatomie und Physiologie der Retina, Arch. f. Mikr. Anat., t. 2, p. 175, 1866; t. 3, pp. 215-247, 1867.
- CHULTZE M.- The retina, In Manual of human and comparative histology, Vol. 3, pp. 218-298, 1873.
- EEFELDER R. - Zur Kenntnis der Pathologischen Anatomie und Pathogenese der Cyclopien, Graefe's Arch. f. Opht., t. 58, pp. 242-274, 1908, Ibid, pp. 275-353, 1908.
- EGAL J.- Le mécanisme de la vision des couleurs, Doin Edit., Paris, 1953. et la Photolyse de l'orangé transitoire rétinien, C.R. de la Soc. de Biol. t. 144, p. 403 1953.
- IDWELL - In LE GRAND Y. Optique physiologique, 1946.
- IDMANN R. et WISLOCKI G. - Histochemical observation on rods and cones in retinas of Vertebrates, Histochem. et Cytochem., t.2, pp. 413-433, 1954.
- JOSTRAND F.S. - J. Cell. Comp. Physiol., t.33, p.383, 1949, In SVAETICHIN- 1956 -
- MITH E.M. - Some observations concerning colour vision in dogs, Brit. Journ. Psych., Vol. 5, pp. 119-202, 1912.
- TENIUS S. - Darkadaptation and the platinum chloride method of staining visual purple, Acta Physiol. Scd., Vol. I, pp. 380-382, 1941 -
- TERN S. - Ueber Sehpurpurfixation, Graefes Arch. Opht., t. 61, pp. 561-563, 1905.
- TUDNITZ G. (Von) - Pflügers Arch., t. 239, p. 515, 1937, In SEGAL 1953.-
- TUDNITZ g. (Von) - Die Ölkugeln der Zapfen und des Pigmentepithels und die Regeneration von Zapfensubstanz und Sehpurpur, Arch. f. Ges. Physiol., Bd. 243, pp. 181-205, 1940.
- (Von)
TUDNITZ G. - Grundvorgänge des Sehens - 100 Jahre Sehstoffe., Nova Acta Leopold., Neue Folge, Bd 9, pp. 53-73, 1940.
- TUDNITZ G. (VON) - Zapfensubstanz und Sehpurpur, Naturwiss., Bd. 29, pp. 65-67, 1941.
- TUDNITZ G. (Von) et LOEWENICH H. K. - Naturwiss., t. 33, p. 18, 1946- In SEGAL 1953.
- UGITA 1926 in LE GRAND Y., Optique physiologique, 1946 .
- WAETICHIN G. - I - A technique for oscillographic recording of spectral response curves, Acta Physiol. Scd., Vol 39, Supl. 134, 1956.

- SVAETICHIN G., II - Spectral response curves from single cones,
III - Receptor mechanisms for flicker and fusion, IV - Notes on
the E.R.G. analysis, V - The cone function related to the activity
of retinal neurons, VI - Aspects on human photoreceptor mechanisms
Acta Physiologica Scandinavica, Vol. 39, Supl. 134, pp. I-II2, 1956.
- THOMAS P. - Manuel de Biochimie Masson Edit, 1946, 1952.
- TOMITA T. - Japan J. Physiol., t. I, p. 110, 1950. See SVAETICHIN - 1956.
- TORRELL E. - The response of the frog to light, Amer. Jour. of Physiol., Vol. 9, t.
pp. 466-488, 1903.
- TINBERGEN - In TRINCKER D. - Wiss. Zeits. d. Ernst Moritz Arndt-Univ. Greifswald,
1954-55.
- TRENDELENBURG W. - Quantitative Untersuchungen über die Bleichung des Sehpurpurs
monochromatischen Licht, Zeits. f. Psychol. und Physiol. der Sinnesorgane, t. 37, 1904.
- TRENDELENBURG W. et SCHMIDT I. - Untersuchungen über das Farbensystem der Zapfen
(Spektral Unterschiedsempfindlichkeit und Spektral Farbmischung bei Helladaptation), Zeits. f. vergl. Physiol., Bd. 12, pp.
249-278, 1930.
- TRINCKER D. - Zur Entwicklung des Farbensinnes, Wissenschaftliche Zeits. der Ernst
Moritz Arndt-Univ., Greifswald, N° 2, pp. 89-98, 1954-1955.
- TURCHINI J., CASTEL P. et KHAU VAN KIEN L. - Une nouvelle coloration nucléaire. Colo-
ration cytologique des noyaux par une fluorone.
C.R. Soc. sc. med. et biol. de Montpellier et du Languedoc méditerranéen, mai, 1943. In Mon-
pellier Médical, 3° sér., t. 23-24, pp. 440-441, 1943 -
- TURCHINI J., CASTEL P. et KHAU VAN KIEN L. - De quelques colorations par les fluo-
rones et leur rapprochement avec la réaction nucléaire de Feul-
gen pour la distinction des acides thymo et zymonucléiques, Ibid
Juillet, 1943, t. 23-24, pp. 599-600, 1943.
- TURCHINI J., CASTEL P. et KHAU VAN KIEN L. - Réactions nucléaires et ^{structure} du noyau,
Ibid, t. 25-26, pp. 396-401, 1944.
- TURCHINI J., CASTEL P. et KHAU VAN KIEN L. - De la détection des acides nucléiques
cellulaires, une nouvelle réaction nucléaire, sa base chimique
et ses possibilités, C.R. de l'Assoc. des Anat., 34° réunion,
Paris, pp. 456-460, 1947.
- TURCHINI J. et KHAU VAN KIEN L. - De la détection des acides Ribonucléiques au
niveau de quelques cellules cancéreuses, V Congrès. Intern. du
cancer (V°), in Unio internationalis contra cancerum Acta, Vol.
pp. 713-716, 1950.
- TURCHINI J. et KHAU VAN KIEN L. - For the detection of the nucléic acids, their
derivatives of the cells, VII th Intern. Congr. of - Intern. -

Soc. for Cell Biology, Yale University, Newhaven, USA, 1950.

^{VAN KIEŃ}

TURCHINI J. et KHAU L. - Des réactions nucléaire, cytoplasmale et nucléotidique aux fluorones et de quelques unes de leurs applications, Jubilé de Feulgen, Acta Histochemica, Bd. 4, p.14, In Feulgen-gedenkheft, 1956.

TUZET O. - Sur la colorabilité de la tête des spermies de Gastéropodes, C.R. de la Soc. de Biol., t. 113, p.653, 1933.

VERRIER M.L. - Les variations morphologiques de la rétine et leurs conséquences physiologiques. A propos de la rétine d'une Musaraigne (*Crocidura mimula* Muller), Ann. Sc. nat. Zool., t. 18, pp. 205-216, et Bull. Biol., t. 72, p. 355., 1938.

VERRIER M.L. - Biologie de la vision, A. Collin Edit. 1945.

VIAUD G. - Recherches expérimentales sur le phototropisme des Daphnies, Publ. de la Fac. des Lettres, Strasbourg, pp. 162-163, 1938.

VILTER V. - Existence d'une rétine à plusieurs mosaïques photoréceptrices, chez un Poisson abyssal bathypélagique, (*Bathylagus benedicti*), C.R. de la Soc. de Biol., t. 147, p.1937, 1953.

VILTER V. - Ecologie de l'hibernation saisonnière du *Nectophrynoïdes occidentalis*, Crapeaud civipare des monts du Nomba en Guinée française, C.R. de la Soc. de Biol., t.149, p.24, 1955.

VILTER V. - Histochemie dynamique de la rétine, Ann. d'Histochemie, Vol. 2, p. 31 1957.

WALD G. - Photo-labile pigment of chicken retina, Nature, London, Vol. 140, p. 545, 1937.

WALD G. - The porphyropsin visual system, Journ. gen. Physiol., Vol. 22, pp. 775, -794, 1939.

WALD G. - Human vision and the spectrum, Science, t. 101, p.653, 1945.

WALD G., BROWN P.K. et SMITH P.H. - Iodopsin, J. gen. Physiol., t. 38, p. 623, 1954-1955.

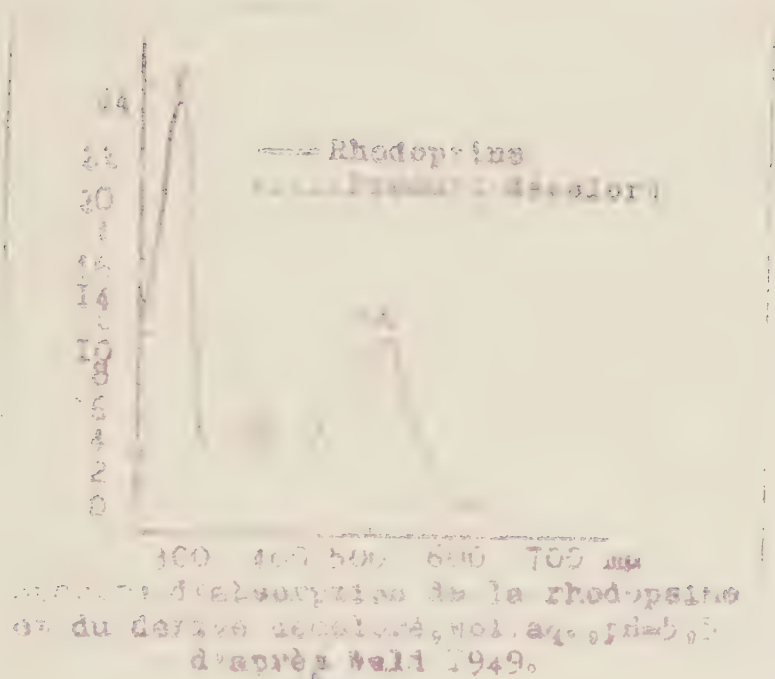


fig. 1

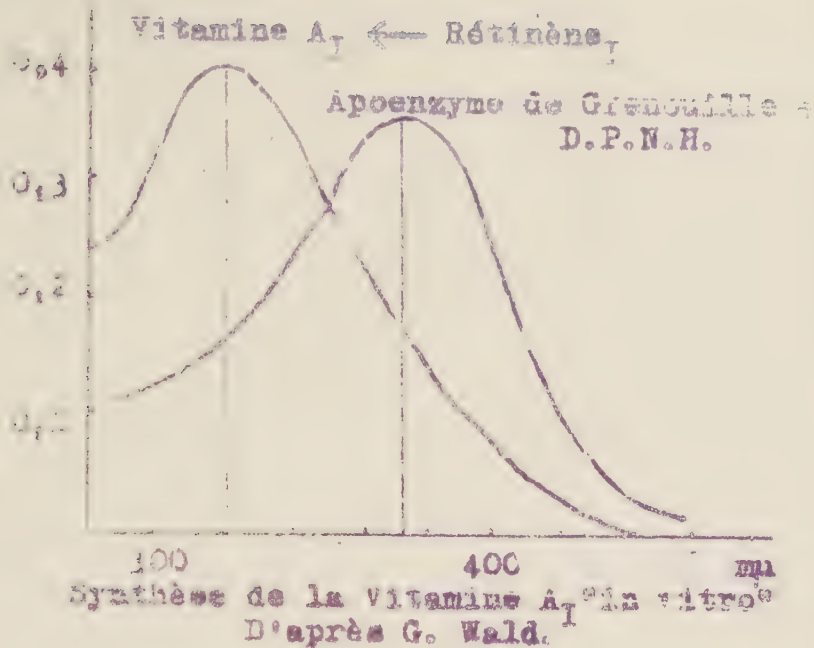


fig. 2

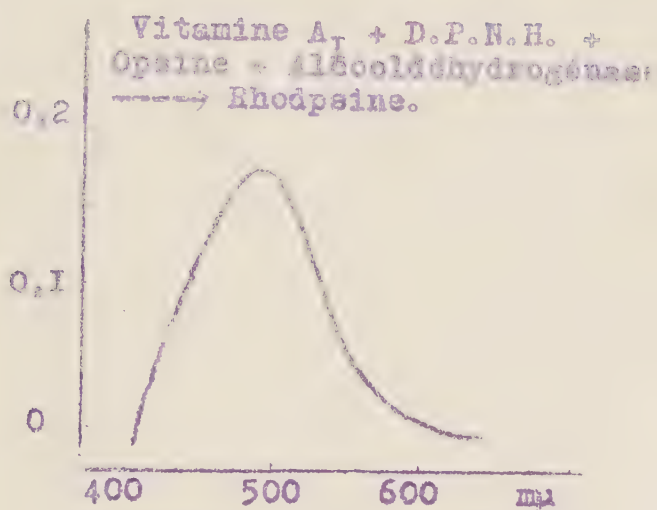


fig. 3

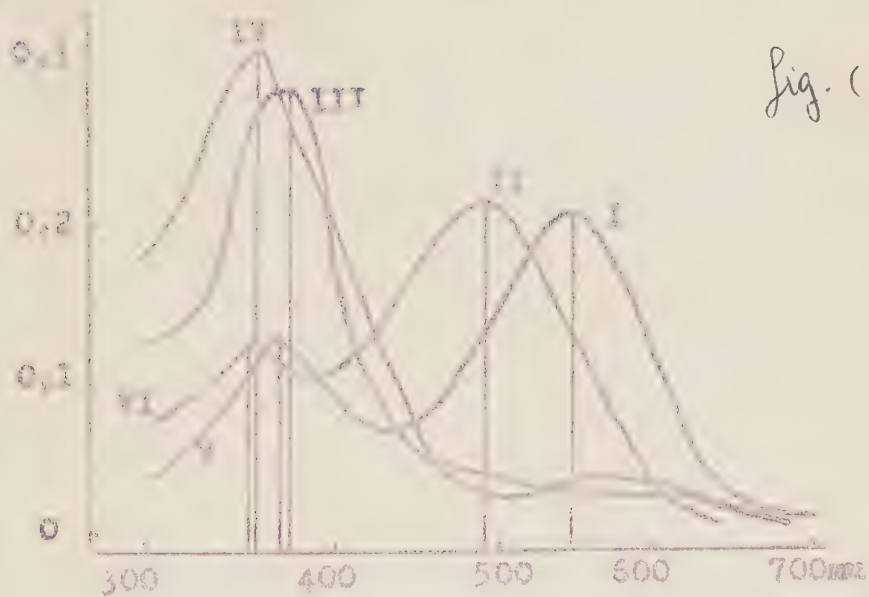
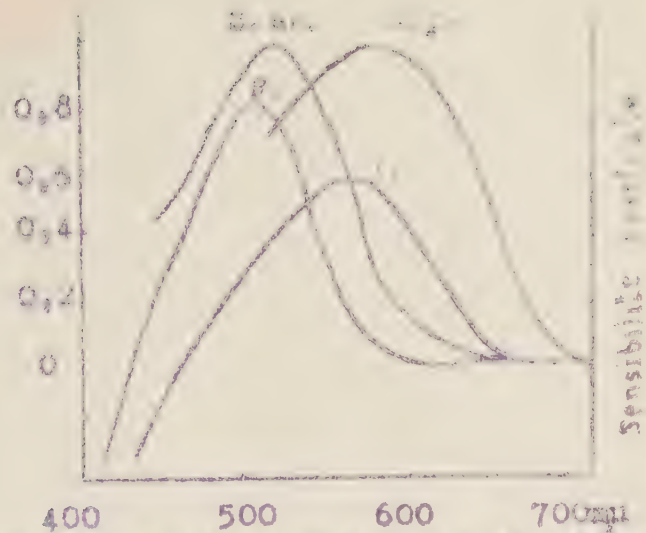


Fig. (H)

Synthèse de lisdopsine à partir des stéréoisomères du rétinène. D'après Wald et coll.

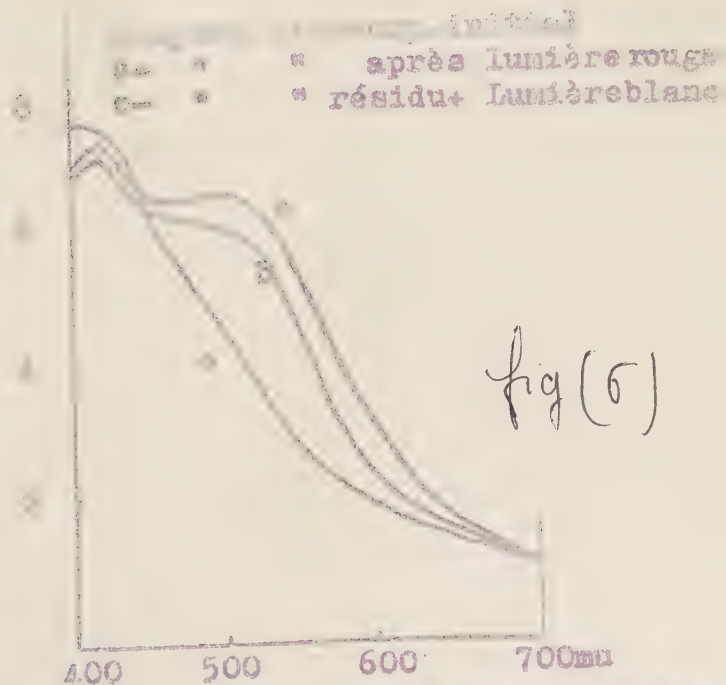
I- lisdopsine, II-iso lisdopsine, III-Allu, rétin

IV- néorét. a, V-iso rét. b, VI-néoréticène b.



Spectres d'absorption de la rhodopsine et de l'iodopsine et courbes de sensibilité photopique et scotopique du cône. D'après Wald, Hönigmann, et Segal.

fig(5)



fig(6)

Photolyse d'un extrait de rétine de lapin adapté à l'obscurité, redessiné d'après Wald et Segal.

Fig 1

100 400 500 600 700 mμ
Spectre d'absorption du pigment incolore de Macaque, d'après Housworth.

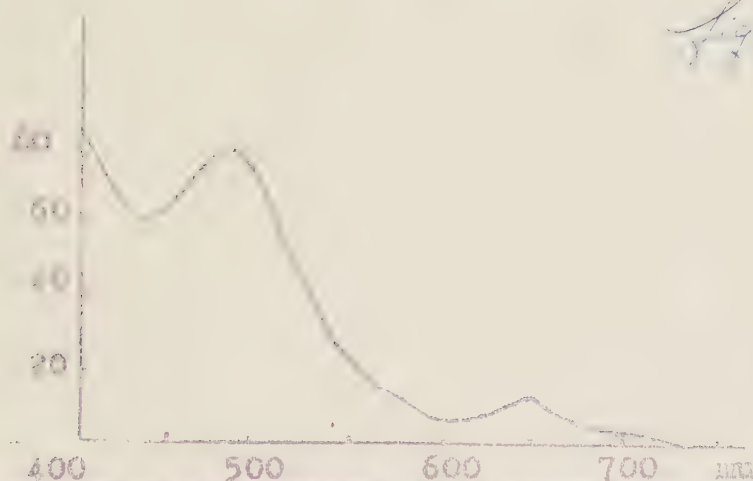


Fig 2

Spectre d'absorption de L-ornithine
D'après Rarger et Segal 1950.

A l'obscurité : différents types de cônez chez la
Grenouille *Rana esculenta*.

Les 4 types de cônes : dessin par projection avec les
dimensions respectives.

Fig.(7).

LES 4 TYPES DE CÔNES DE LA RETINE DE GRENOUILLE



I

II

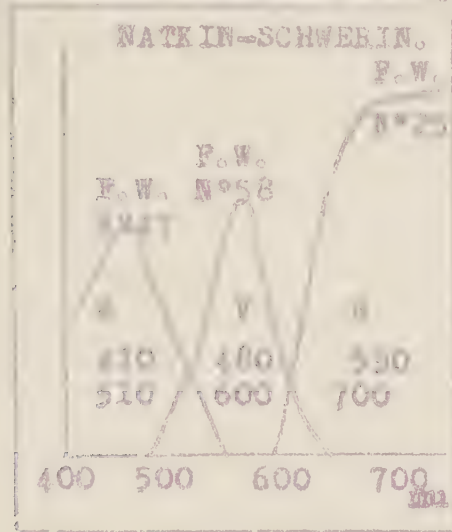
III

IV

Fig. 8

Fig. (9)

Courbes de transmission relative
des filtres Wratten Kodak, d'apr.



Fondamentale de Maxwell

457 528 700

FILTRE WRATTEN KODAK N° 74
Pourcentage de transmission:

5100Å	5200	5300	5400	5500	5600	5700
1,00	8,0	15,1	10,1	4,25	1,14	0,12

Fig. (10)

Lumière bleue :

Les grands cônes du type I sont touchés. Ceux du type II le sont moins.

Lumière verte :

Les cônes du type IV et III résistent bien
Ceux du type II sont touchés et manquent le plus souvent.

Lumière rouge :

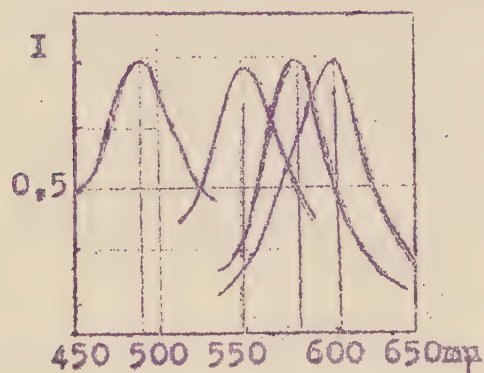
Les grands cônes du type I résistent assez bien.

Les petits cônes du type IV et III sont respectivement touchés.

Fig.(II)

fig. (12)

Courbes des modulateurs de la
Grenouille. D'après Granit.



Fondamentales de Helmholtz

B	V	J	R
476	520	572	645
	540		

Cellules visuelles du Crénilabre

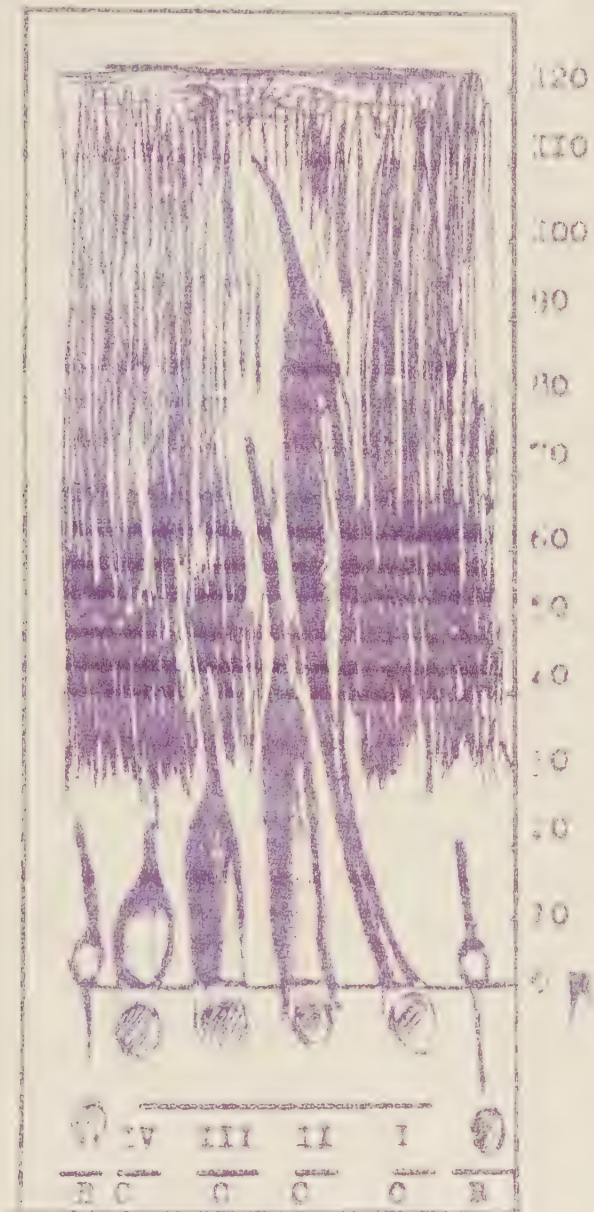


Fig 13

REACTIONS HISTOCHIMIQUES DES PIGMENTS VISUELS

Fig.(I6)

Rétine obscurée : bâtonnets + cônes

Fig.(I7)

Rétine éclairée : + cônes

REACTIONS HISTOCHIMIQUES DES PIGMENTS VISUELS

Fig.(20)

Rétine obscurée

Fig.(21)

Rétine éclairée

REACTION : DES NUCLEOTIDES-FLUORONE.

Fig.(22)

Régine obscurée du Crénilabre

Fig.(23)

Rétine éclairée

REACTION DES POLYSACCHARIDES ou DE MAC MANUS.

Fig.(24)

Rétine obscurée

Fig.(25)

Rétine éclairée

COLORATION SIGNALÉTIQUE A L'AZAN

Fig.(26)

Rétine obscurée du Crénilabre

Fig.(27)

Rétine éclairée

COLORATION DES LIPIDES AU BLEU LUMIERE

REPONSES DES CONES DE LA RETINE DU CRENILABRE
AUX LUMIERES COLOREES MONOCHROMATIQUES.

Fig.(28)

Lumière Bleue : Ecran Wratten Kodak n° 47

Fig.(29)

REACTION : OPSINE-ALUN-HEMATOXYLINE.

REPONSES DES CONES DE LA RETINE DU CRENILABRE
AUX LUMIERES COLOREES MONOCHROMATIQUES.

Fig.(30)

Lumière verte : Ecran Wratten Kodak n° 74 et 58

Fig.(31)

DEPIGMENTATION + COLORATION A L'HEMATOXYLINE.

REPONSES DES CONES DE LA RETINE DU CRENILABRE
AUX LUMIERES COLOREES MONOCHROMATIQUES

Fig.(32)

Lumière jaune : Ecrans Schott.

Fig.(33)

REACTION : OPSINE-ALUN-HEMATOXYLINE.

REPONSES DES CONES DE LA RETINE DU CRENILABRE
AUX LUMIERES COLOREES MONOCHROMATIQUES

Fig.(34)

Lumière rouge : Ecran Wratten Kodak n° 25

Fig.(35)

REACTION : OPSINE-ALUN-HEMATOXYLINE

ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA VISION CHEZ LA GRENOUILLE
(*Rana temporaria*)
REPONSES DES CELLULES VISUELLES A LA LUMIERE BLANCHE

Fig.(36)

Rétine obscurée : coloration à l'Azocarmin.

Fig.(37)

Rétine éclairée : décoloration des bâtonnets
Résistance des cônes.

ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA VISION DES COULEURS

Chez la Grenouille *Rana temporaria*.

REPONSE DES CONES A LA LUMIERE BLEUE : Ecran Wratten Kodak n° 47

Fig.(38)

REACTION : OPSINE - ALUN - HEMATOXYLINE.

Fig.(39)

DECOLORATION DU SEGMENT EXTERNE DES CONES DU TYPE I.

ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA VISION DES COULEURS

Chez la Crenouille *Rana temporaria*,

REPONSE DES CONES A LA LUMIERE VERTE : Ecran Wratten Kodak n° 74

Fig.(40)

COLORATION SIGNALÉTIQUE A L'AZOCARMIN

Fig.(41)

DECOLORATION DU SEGMENT EXTERNE DES CONES DU TYPE II

ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA VISION DES COULEURS

Chez la Grenouille *Rana temporaria*,

RESPONSE DES CONES A LA LUMIERE JAUNE : Vapeurs de sodium et Ecran Sch

Fig.(42)

Lampe à vapeurs de sodium.

Fig.(43)

Décoloration du segment externe du cône du type III,
Résistance des autres cônes.

ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA VISION DES COULEURS
chez la Grenouille *Rana temporaria*,
REPONSE DES CONES A LA LUMIERE ROUGE : Ecran Wratten Kodak N°2

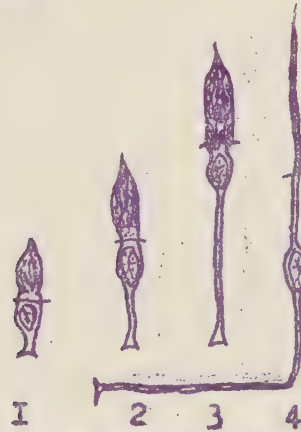
g.(44)

REACTION : OPSINE - ALUN - HEMATOXYLINE -

g.(45)

Décoloration du segment externe des cônes IV, avec résistance
des autres types de cônes.

Différents types de cônes
 Suivant le point de la rétine
 chez l'Homme



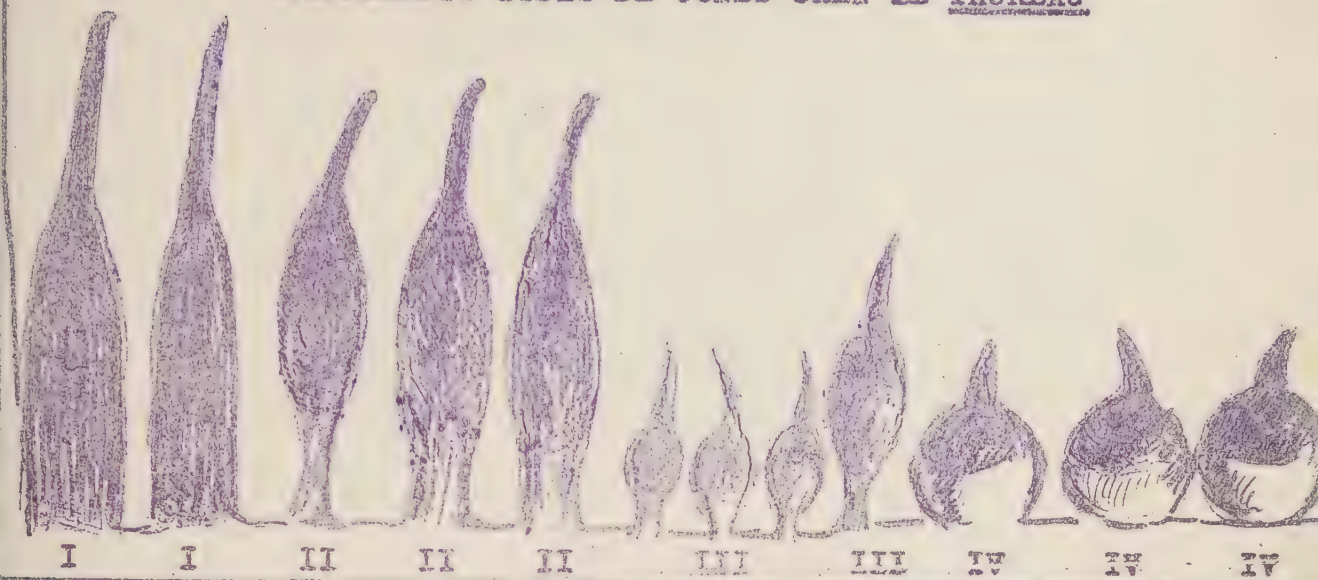
- I - près de l'ora serrata
 2 - Fond de la rétine en dehors
 de la macula
 3 - Bord de la macula
 4 - Fond de la macula
 D'après A. Policard.

Fig. (46)



DIFFERENTS TYPES DE CONES CHEZ LE TAUREAU

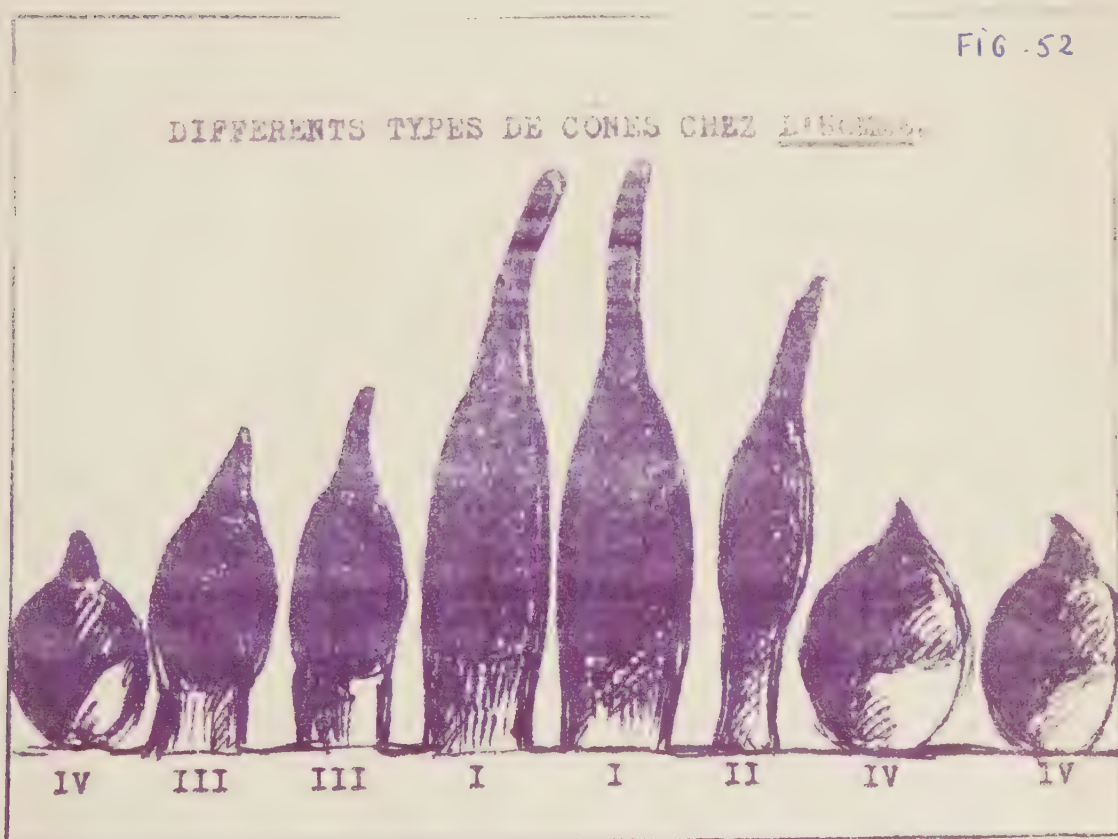
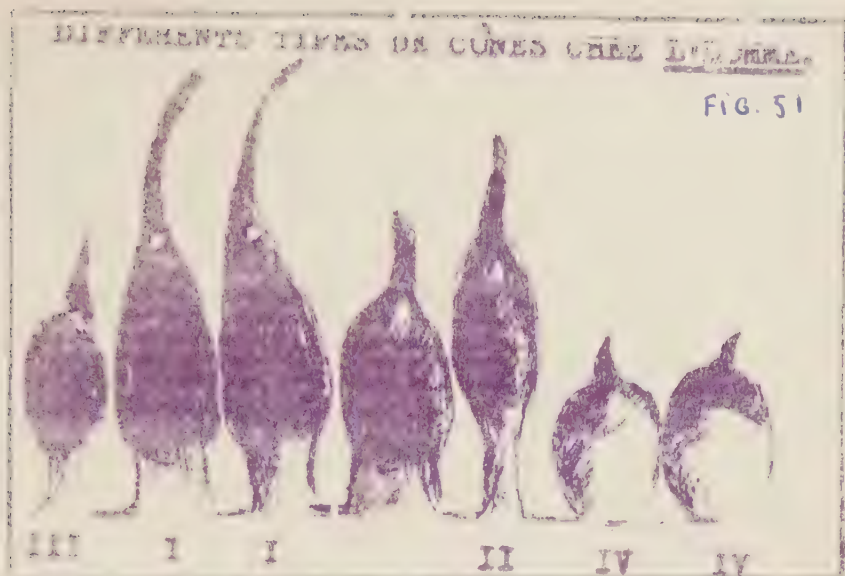
fig 47



DIFFERENTS TYPES DE CÔNES CHEZ LE SINGE CYNOCÉPHALE

fig 50





PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

Deuxième Thèse

LES SAPROLEGNIACEES

Vu et permis d'imprimer

Montpellier, le 16 Juillet 1959.

Le Recteur :

RICHARD

Vu et approuvé

*Montpellier,
le 15 Juillet 1959*

Le Doyen :

MATHIAS.

